Aus der Medizinischen Klinik
Abteilung Innere Medizin II
der Universität Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller

Immunhistologische Analyse von Thymusveränderungen bei Myasthenia gravis mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
MARIA KAUFMANN
aus Tübingen

1986

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543922_0081

Aus der Medizinischen Klinik
Abteilung Innere Medizin II
der Universität Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller

Immunhistologische Analyse von Thymusveränderungen bei Myasthenia gravis mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
MARIA KAUFMANN
aus Tübingen

1986

Dekan: Professor Dr. W. Schulte

1.Berichterstatter: Privatdozentin Dr. C. Müller

2.Berichterstatter: Professor Dr. D. Niethammer

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1. Einleitung Seite 1
1.1. Definition der myasthenischen Erkrankung Seite 1
1.2. Klinische Einteilung Seite 2
1.3. Pathophysiologie Seite 2
1.4. Aufbau und Funktion des normalen Thymus Seite 4
1.5. Histologie des pathologischen Thymus bei MG Seite 6
1.6. Prinzip der monoklonalen Antikörper Seite 7
1.7. Problemstellung Seite 8

2. Materialien und Methoden Seite 9
2.1. Untersuchungsmaterial Seite 9
2.2. Geräte und Chemikalien Seite 10
2.3. Antiseren Seite 11
2.3.1. Heteroseren Seite 11
2.3.2. Monoklonale Antikörper Seite 12
2.3.2.1. Monoklonale Antikörper gegen lymphohämatopoetische Zellen Seite 12
2.3.2.1.1. T-Zellen Seite 12
2.3.2.1.2. B-Zellen Seite 13
2.3.2.2. Monoklonale Antikörper gegen Epithelzellen Seite 13
2.3.2.3. Monoklonale Antikörper gegen HLA-Antigene Seite 13
2.3.2.3.1. Monomorphe Antikörper Seite 13
2.3.2.3.2. Polymorphe Antikörper Seite 14
2.4. Objektherstellung Seite 15
2.4.1. Immunhistologische Färbung Seite 15
2.4.1.1. Indirekte Immunoperoxidasetechnik Seite 15
2.4.1.2. PAP-Technik Seite 16
2.5. Beurteilung der immunologischen Reaktionen Seite 16

3. Ergebnisse Seite 18
3.1. Reaktionsmuster der Antiimmunglobulinseren Seite 18
3.1.1. Normaler Thymus Seite 18
3.1.2. Follikuläre Thymushyperplasie Seite 18

3.1.3. Thymom Seite 18
3.2. Reaktionsmuster der T-Zellenantikörper Seite 19
3.2.1. Normaler Thymus Seite 19
3.2.2. Follikuläre Thymushyperplasie Seite 19
3.2.3. Thymom Seite 20
3.3. Reaktionsmuster der B-Zellantikörper Seite 20
3.3.1. Normaler Thymus Seite 20
3.3.2. Follikuläre Thymushyperplasie Seite 21
3.3.3. Thymom Seite 22
3.4. Reaktionsmuster des Antikörpers gegen Thymusepithelien Seite 22
3.4.1. Normaler Thymus Seite 22
3.4.2. Follikuläre Thymushyperplasie Seite 23
3.4.3. Thymom Seite 23
3.5. Reaktionsmuster der Antikörper gegen HLA-Antigene Seite 24
3.5.1. Monomorphe Antikörper Seite 24
3.5.1.1. Normaler Thymus Seite 24
3.5.1.2. Follikuläre Thymushyperplasie Seite 24
3.5.1.3. Thymom Seite 25
3.5.2. Polymorphe Antikörper gegen HLA-Merkmale Seite 26
3.5.2.1. Normaler Thymus Seite 26
3.5.2.2. Follikuläre Thymushyperplasie Seite 27
3.5.2.3. Thymom Seite 27

4. Diskussion Seite 28
4.1. B-Zellsubpopulationen und B-Zellfollikel im pathologischen Thymus Seite 28
4.2. In situ-Analyse der T-Zelldifferenzierungsstadien im pathologischen Thymus Seite 30
4.3. Verteilung von Epithelzellsubpopulationen im normalen und pathologischen Thymus Seite 32
4.4. Unterschiede im Verteilungsmuster von HLA-Antigenen und deren mögliche Bedeutung für die T-Zellreifung Seite 34
4.5. Schlußfolgerung Seite 38

5. Zusammenfassung Seite 39

6. Abbildungen und Tabellen Seite 41
Tabelle I: Angaben über Spender der untersuchten Thymusdrüsen Seite 45
Tabelle II: Monoklonale Antikörper Seite 48
Tabelle III: Reaktionsmuster der Antiimmunglobulinseren Seite 50
Tabelle IV: Reaktionsmuster der T-Zellantikörper Seite 52
Tabelle V: cortikale Reaktionsmuster am normalen Thymus der Antikörper Tü 11 und Tü 25 Seite 53
Tabelle VI: Reaktionsmuster der polymorphen mAk gegen HLA-Klasse I Antigene Seite 54

7. Abkürzungsverzeichnis Seite 57

8. Literaturverzeichnis Seite 58

Lebenslauf Seite 68

1. E I N L E I T U N G

1.1. Definition der myasthenischen Erkrankung

Die Erkrankung Myasthenia gravis (MG), von ERB (1840-1921), OPPENHEIM (1958-1919) und GOLDFLAM (1952-1932 zuerst beschrieben, zeichnet sich durch eine abnorme Ermüdbarkeit der quergestreiften Muskulatur unter Belastung aus. Betroffene Muskeln werden bei Beanspruchung während des Tages zunehmend paretisch, während sie sich unter Ruhebedingungen - zumindest bei leichtem bis mittelschwerem Befall - innerhalb von Minuten bis Stunden wieder erholen können.
Symptome äußern sich vorzugsweise an der von Bulbärkernen innervierten Skelettmuskulatur (Gesichts-, Augen-, Zungen-, Rachen- und Atemmuskulatur). Es kann jedoch die gesamte Skelettmuskulatur mehr oder weniger stark betroffen sein.
Als Ursache für diese Symptome wird heute eine Störung der neuromuskulären Überleitung aufgrund von Autoimmunreaktionen diskutiert. Folgende klinische Beobachtungen sprechen für diese Hypothese:

- Myasthenische Symptome gehen häufig mit anderen, vermutlich immunologisch bedingten Erkrankungen wie z. B. Lupus erythematodes, Thyroiditis (SIMPSON, 1960) einher.

- Unter einer immunsuppressiven Therapie bessern sich die myasthenischen Symptome (WARMOLTS et al., 1972, JENKINS, 1972; SEYBOLD et al., 1974).

- Häufige Begleiterscheinungen der Erkrankung sind pathologische Thymusveränderungen (CASTLEMAN, 1966) und therapeutischer Erfolg der Thymektomie (BLALOCK, 1939; GENKINS et al., 1975; BUCKINGHAM et al., 1976).

1.2. Klinische Einteilung

Klinisch unterscheidet man vier Schweregrade nach dem Schema von OSSERMAN, modifiziert durch PERLO et al. (1966):

Grad I: okuläre Myasthenie
ein- oder beidseitiger Befall der äußeren Augenmuskeln.

Grad IIa: leichte generalisierte Myasthenie mit okulären Symptomen.

Grad IIb: mittelschwere generalisierte Myasthenie mit deutlichen bulbären Symptomen.

Grad III: akute schwere generalisierte Myasthenie mit ausgeprägten bulbären Symptomen und Beteiligung der Atemmuskulatur.

Grad IV: späte schwere generalisierte Myasthenie mit ausgeprägten bulbären Symptomen und Beteiligung der Atemmuskulatur, die sich aus einer Myasthenie vom Schweregrad I, IIa oder IIb entwickelt hat.

Gelegentlich wird noch ein Schweregrad V oder A = Vollremission zugefügt.

1.3. Pathophysiologie

Mit Hilfe von intrazellulären Ableitungen an isolierten Intercostalmuskelfasern können bei Myastheniekranken Miniaturendplattenpotentiale registriert werden, deren Amplitude wesentlich geringer ist als diejenige entsprechendener Potentiale gesunder Kontrollpersonen (ELMQUIST et al., 1964). Diese Amplitudenverminderung beruht auf einer Reduzierung freier Acetylcholinrezeptoren an der postsynaptischen Membran. Die Reduzierung freier Acetylcholinrezeptoren läßt

sich mit ^{125}J markiertem Bungarotoxin, das an den Acetylcholinrezeptor bindet, nachweisen (FAMBROUGH et al., 1973; DRACHMAN et al., 1976).
Die Frage, ob die Reduzierung freier Acetylcholinrezeptoren tatsächlich für die myasthenischen Symptome verantwortlich ist, kann im Tierversuch beantwortet werden. Durch die pharmakologische Anwendung von Cobratoxin können Acetylcholinrezeptoren blockiert werden (SATYAMURTI et al., 1975). Dieses Modell führt im Tier zu den typischen Symptomen der menschlichen Myasthenie: Diese Tiere zeigen im Experiment Schwäche ihrer Muskulatur und eine ungewöhnliche Kontraktionsabnahme bei repetitiver elektrischer Stimulation (ÖZDEMIR and YOUNG, 1976). Ferner können dabei auch Amplitudenverminderungen der Miniaturendplattenpotentiale nachgewiesen werden (CHANG et al., 1966).

Die Verminderung freier Acetylcholinrezeptoren wird heute auf humorale und zelluläre immunologische Reaktionen zurückgeführt.
Bei über 80 % der Myastheniker werden Antikörper gegen Acetylcholinrezeptoren nachgewiesen (AHARNOV et al., 1975; LINDSTRÖM et al., 1976). Durch Immunglobuline Myastheniekranker kann ein beschleunigter Abbau von Acetylcholinrezeptoren in Muskelzellkulturen bewirkt werden (KAO and DRACHMAN, 1977a), wobei die relative Abbaurate mit dem klinischen Status korreliert (DRACHMAN et al., 1982).
Außerdem werden auch zelluläre Reaktionen gegen Muskelgewebe beschrieben. Im Muskelgewebe Myastheniekranker lassen sich häufig ausgeprägte Lymphozyteninfiltrate beobachten (RUSSEL, 1953). Ferner können bei diesen Patienten Lymphozyten des Blutes durch Acetylcholinrezeptoren zur Proliferation angeregt werden (ABRAMSKY et al., 1975, RICHMAN et al., 1976). Lymphozyten Myastheniekranker können durch eigene Thymozyten, die man bei Thymektomie erhält, in gleicher Weise stimuliert werden (RICHMAN et al., 1976; COOK et al., 1977). Auf Grund dieser Beobachtung kann man annehmen, daß Lymphozyten und Thymozyten an Autoimmunreaktionen

gegen Acetylcholinrezeptoren beteiligt sind. Wodurch diese Immunreaktionen ausgelöst werden und welche Zelle primär sensibilisiert wird, ist bisher ungeklärt.

Folgende Hypothese zur Sensibilisierung von Lymphozyten gegen Acetylcholinrezeptoren wird heute diskutiert:
Medullär finden sich im Thymus Myoidzellen (VELDE and FRIEDMAN, 1970), die auf ihrer Zelloberfläche Acetylcholinrezeptoren tragen (KAO and DRACHMAN, 1977b).
Zelluläre Veränderungen oder Entzündungen des Thymus könnten eine Sensibilisierung der Lymphozyten gegen diese Antigene bewirken und durch Kreuzreaktion mit der Skelettmuskulatur die myasthenischen Symptome auslösen.
Tatsächlich bewirkt eine experimentell induzierte Thymitis bei Meerschweinchen ein Myasthenie ähnliches Syndrom (GOLDSTEIN and MANGANARO, 1971). Ebenfalls für diese Hypothese sprechen die pathologischen Thymusveränderungen, die häufig mit MG assoziiert sind (CASTLEMAN and NORRIS, 1949; CASTLEMAN, 1966).

1.4. Aufbau und Funktion des normalen Thymus

Die Thymusdrüse gliedert sich in zwei Bereiche: in den lymphozytenreichen Cortex und die Medulla, die weniger Lymphozyten enthält. In beiden Arealen des Thymus bilden epitheliale Zellen ein 'Netzwerk', in dem die Lymphozyten liegen (LEVINE and ROSAI, 1978; GAUDECKER and MUELLER-HERMELINK, 1979; SHIER, 1981). Zwischen cortikalen und medullären epithelialen Zellen bestehen morphologische Unterschiede. HWANG et al. (1974) schließen daraus auf mehrere Differenzierungslinien, die sich bereits in der frühen embryologischen Entwicklung manifestieren (GAUDECKER and MUELLER-HERMELINK 1979). Epitheliale Zellen des Cortex erscheinen lichtmikroskopisch einheitlicher als jene in der Medulla (SHIER, 1981).
Die medullären epithelialen Zellen stehen in desmosomalem

Kontakt mit den medullären Hassall'schen Körperchen, die aus zwiebelschalenartig angeordneten Zellen bestehen und deren Funktion und Herkunft bisher nicht eindeutig geklärt ist (BEARMAN et al., 1978).
Neben den epithelialen Zellen lassen sich in der Medulla Zellen nachweisen, deren Morphologie sie als interdigitäre Retikulumzellen charakterisiert (GAUDECKER and MUELLER-HERMELINK, 1979).

Der Thymus nimmt innerhalb der lymphatischen Organe eine übergeordnete Stellung ein. Seine Aufgabe kann durch eine neonatale Thymektomie an Mäusen demonstriert werden. Solche Mäuse weisen eine Verringerung zirkulierender Lymphozyten, abgeschwächte Antikörperproduktion gegen einige Antigene und Unfähigkeit zur wirkungsvollen Fremdgewebsabstoßung und Infektionsbekämpfung auf (MILLER, 1962).
Die Aufgabe des Thymus ist die T-Zellreifung. Dabei stellen die Lymphozyten des Cortex die unreifen, und jene in der Medulla die reifen T-Zellen dar (CANTOR and WEISSMAN, (1976). Neben thymuseigenen hormonalen Faktoren (BACH et al., 1972; GOLDSTEIN et al., 1975), die wahrscheinlich von epithelialen Zellen sezerniert werden (DALAKAS et al., 1981), nehmen zelluläre Kontakte zwischen Lymphozyten, epithelialen Zellen und interdigitären Retikulumzellen Einfluß auf die T-Zelldifferenzierung (WEISSMAN et al., 1975; JANOSSY et al., 1980). Diese Mechanismen bewirken, daß die T-Zellen körpereigene bzw. thymuseigene HLA-Antigene erkennen, d.h. eine Immuntoleranz gegenüber eigenen HLA-Antigenen entwickeln und gegen zellständige Fremdantigene wie z. B. Virusprodukte reagieren können.
Mit Hilfe von Thymustransplantaten ist im Tierversuch gezeigt worden, daß zytotoxische T-Zellen nur die oberflächenmodifizierten Zielzellen erkennen, die die dem Antigenmilieu des implantierten Thymus entsprechenden MHC-Antigene aufweisen (BEVAN, 1978; ZINGERNAGEL et al., 1978). Man nimmt deshalb an, daß für die T-Zellreifung beim Menschen die HLA-Antigen-

verteilung im Thymus entscheidend ist. Nach heutigem Wissensstand gestaltet sich die HLA-Antigenverteilung im normalen Thymus wie folgt:

- HLA-Antigene der Klasse I werden im menschlichen Thymus von cortikalen sowie von medullären epithelialen Zellen, von interdigitären Retikulumzellen und medullären Lymphozyten exprimiert (JANOSSY et al., 1980). Im Vergleich dazu finden sich diese Antigene in schwächerer Ausprägung auf allen cortikalen Lymphozyten, die das Thymozytenantigen HTA 1 aufweisen (HEINRICHS et al., 1980).
- HLA-Antigene der Klasse II werden von cortikalen und medullären epithelialen Zellen sowie von interdigitären Retikulumzellen manifestiert (BHAN et al., 1980; JANOSSY et al., 1980).

1.5. Histologie des pathologischen Thymus bei MG

Bei Myastheniepatienten lassen sich vermehrt follikuläre Thymushyperplasien und Thymome beobachten (CASTLEMAN and NORRIS, 1949; CASTLEMAN, 1966).

Eine follikuläre Thymushyperplasie zeichnet sich dadurch aus, daß in einem annähernd normal großen Thymus medullär Keimzentren auftreten (SLOAN, 1943; CASTLEMAN and NORRIS, 1949), die in ihrem histologischen und histochemischen Aufbau den Keimzentren anderer lymphatischer Organe entsprechen (TOMAOKI et al., 1971). Zusätzlich fallen medullär eine Zellverdichtung (SLOAN, 1943) und eine Vermehrung von Plasmazellen (GOLDSTEIN, 1966; GOLDSTEIN et al., 1968) auf.

Nach LEVINE und ROSAI (1978) stellt ein Thymom eine Neoplasie epithelialer Zellen des Thymus dar. Entsprechend der verschiedenen epithelialen Zellpopulationen scheinen auch unterschiedliche Thymomformen aufzutreten. Es lassen sich morphologisch cortikale epitheliale Zellen von runden bis ovalen medullären epithelialen Zellen unterscheiden.

Ebenso sind Thymome aus spindelförmigen epithelialen Zellen beobachtet worden. Neben der epithelialen Komponente finden sich in den Thymomen unterschiedlich häufig Lymphozyten.
Das histologische Bild der Thymome ist daher recht vielfältig, weshalb zur Zeit in der pathologischen Diagnostik keine allgemein gültige Thymomklassifikation Anwendung findet. Man unterteilt die Thymome je nach infiltrierendem Wachstum in maligne oder benigne Formen.

Untersuchungen des Myastheniethymus auf zelluläre Veränderungen zeigen eine Vermehrung von B-Zellen (ABDOU et al., 1974; STABER et al., 1975; AARLI et al., 1979) und von epithelialen Zellen, die Thymosin, ein thymuseigenes Hormon, verstärkt sezernieren (DALAKAS et al., 1981).
T-Zellveränderungen des Myastheniethymus lassen sich jedoch trotz der oben beschriebenen zellulären Reaktionen nicht sicher verifizieren (STABER et al., 1975).

1.6. Prinzip der monoklonalen Antikörper

Das Prinzip dieser Technik ist, eine Myelomzelle, die sich in vitro unbegrenzt vermehrt, mit einer B-Zelle die gegen ein bestimmtes Antigen Antikörper produziert, zu verschmelzen. Durch die Fusion solcher Zellen entstehen Hybridome, die das genetische Material beider Zelltypen in sich vereinen, d.h. die in vitro bei anhaltender Mitosefähigkeit Antikörper sezernieren, die gegen ein spezifisches Antigen gerichtet sind. Durch die Klonierung der Hypridome kann man Zellinien selektionieren, die jeweils nur einen Antikörper gegen eine Antigendeterminante produzieren.
Darin liegt auch der Vorteil monoklonaler Antikörper gegenüber polyklonalen Heteroseren, die aus verschiedenen Antikörpern unterschiedlicher Spezifität bestehen. Im Gegensatz zu Heteroseren können monoklonale Antikörper nahezu

unbegrenzt und beliebig hochtitrig hergestellt werden.

1.7. Problemstellung

Die Entwicklung monoklonaler Antikörper gegen Zelloberflächenmerkmale führte zu einer genaueren Charakterisierung und Unterscheidung verschiedener Zellpopulationen und ihrer Differenzierungsstufen, als es die bisherigen morphologischen und cytochemischen Methoden ermöglichten.
In dieser Arbeit wird unter Anwendung immunhistologischer Techniken mit Hilfe monoklonaler Antikörper und einiger Heteroseren gegen Immunglobuline versucht, zelluläre Veränderungen im Thymus von Patienten mit MG im Vergleich zu Normalpersonen aufzudecken. Es werden dabei vor allem T- und B-Zellsubpopulationen sowie epitheliale Zellen analysiert. Ferner wird die Verteilung von HLA-Antigenen im normalen und pathologischen Thymus untersucht.

2. MATERIALIEN UND METHODEN

2.1. Untersuchungsmaterial

In den vorliegenden Untersuchungen wurden Gewebsschnitte von folgenden verschiedenen Thymi verwendet (Tab. I a - c):

- Gewebsproben von 9 normalen kindlichen Thymusdrüsen, die im Rahmen cardialer Operationen erhalten wurden.

- 8 follikuläre Thymushyperplasien von erwachsenen Patienten, die jeweils an einer MG des Schweregrades IIa, IIb oder III erkrankt waren. Die Patienten waren mit Cholinesteraseinhibitoren, aber nicht immunsuppressiv vorbehandelt. Die Thymektomie bewirkte bei all diesen Patienten nur in Verbindung mit einer postoperativen immunsuppressiven Behandlung einen Rückgang der myasthenischen Symptome.

- 2 maligne Thymome, die sich im Erwachsenenalter gebildet hatten, und die beide von einer MG des Schweregrades III begleitet wurden.

- 1 benignes Thymom eines Erwachsenen, der keine myasthenischen Symptome zeigte.

Dem Alter der Myastheniepatienten entsprechende normale Thymusdrüsen standen nicht zur Verfügung.
5 Spender von normalen Thymi, 5 Myastheniepatienten mit follikulärer Thymushyperplasie und ein Myastheniepatient mit einem malignen Thymom wurden HLA-typisiert.
4 normale Thymi konnten mit Hilfe der immunhistologischen Markierung durch polymorphe mAk teilweise typisiert werden (Tab. VI).

2.2. Geräte und Chemikalien

Zur Durchführung der Untersuchungen wurden folgende Geräte und Chemikalien benötigt:

- Kryotom: Modell 2 700, FRIGOCUT; Fa. REICHERT JUNG, Deutschland

- Wärmeschrank: Fa. LABOTEKT, Göttingen, Deutschland

- Lyophilisator: THERMOVAC, Fa. ASHCROFT USA

- Photomikroskop: Fa. ZEISS, Oberkochen, Deutschland

- Aceton, Trishydroxymethylaminomethan (Tris), Natriumchlorid krist. reinst, Wasserstoffperoxid, MAYER'S Hämalaun, KAISER'S Glyzeringelatine: Fa. MERCK, Darmstadt, Deutschland.

- HANK'S BSS (buffered salt solution, Mg und Ca frei, pH 7,0), RPMI 1640 Biocult: Fa. GIBCO EUROPE, Glasgow, Großbritannien.

- 3',3'-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid: Fa. SERVA, Heidelberg, Deutschland

- Serumalbumin vom Rind, reinst: BEHRINGWERKE AG, Marburg Deutschland

2.3. Antiseren

2.3.1. Heteroseren

Anti-IgM, Anti-IgD: verwendet wurden die Kaninchenseren der Fa. DAKO/Kopenhagen, Dänemark.
Die Antiimmunglobulinseren wurden mit einer 1 % igen Rinderserumalbuminlösung, in 0,1M NaCl/0,001M Trispuffer (pH 7,4), im Verhältnis 1 : 200 verdünnt.

Anti-Kaninchenschweineserum, PAP-Komplex (lösliche Komplexe von Meerrettichperoxidase und Kaninchenanti-Meerrettichperoxidase): beide Seren wurden ebenfalls von der Fa. DAKO/Kopenhagen bezogen und mit 1 % Rinderserumalbuminlösung in 0,1M NaCL/0,001M Trispuffer (pH 7,4), im Verhältnis 1 : 40 verdünnt.

Anti-Maus IgG mit Peroxidase konjugiert: dieses Serum wurde ebenfalls von der Fa. DAKO/Kopenhagen bezogen. Es wurde im Verhältnis 1 : 20 mit 20% igem humanem AB-Serum in HANK'S BSS (pH 7,4) verdünnt.

2.3.2. Monoklonale Antikörper (Tab. II)

2.3.2.1. Monoklonale Antikörper gegen lympho-hämatopoetische Zellen

2.3.2.1.1. T-Zellen

Es wurden monoklonale Antikörper der OKT-Serie der Fa. ORTHO PHARMACEUTICAL CORPORATION, Immunology Division, Raritan/New Jersey, USA, verwendet.

OKT 3: Dieser mAk erkennt mehr als 95 % der T-Zellen im Blut (KUNG et al., 1979; REINHERZ et al., 1979).

OKT 4: Dieser mAk reagiert mit Helfer T-Zellen (REINHERZ et al., 1979).

OKT 6: Dieser mAk richtet sich gegen cortikale Thymozyten (REINHERZ et al., 1980; TIDMAN et al., 1981).

OKT 8: Dieser mAk ist spezifisch für zytotoxische bzw. Suppressor T-Zellen (REINHERZ et al., 1980; TIDMAN et al., 1981).

T 28 erkennt das UCHT 1 Antigen, das von T-Zellen exprimiert wird, die mit Schafserythrozyten Rosetten bilden (E positiv) (BEVERLEY and CALLARD, 1981).
Dieser mAk wurde zusätzlich eingesetzt, um Vergleiche mit Ergebnissen anderer Autoren anstellen zu können, die T-Zellen im Myastheniethymus mit Hilfe der E-Rosettentechnik untersuchten.

2.3.2.1.2. B-Zellen

Tü 1: In Gefrierschnitten normaler Lymphknoten reagiert dieser Antikörper mit Zentrozyten des Sekundärfollikels, sowie einer B-Zellsubpopulation des Follikelmantels. Maximal 2 % der B-Zellen im Blut sind Tü 1 positiv (ZIEGLER et al., 1981).

Tü 11: In Gefrierschnitten werden Plasmazellen des Follikelzentrums sowie eine B-Zellsubpopulation des Follikelmantels erkannt. Ferner reagiert dieser mAk mit allen Schichten des verhornten und unverhornten Plattenepithels, einschließlich der Basalmembran (MÜLLER, persönliche Mitteilung, 1984).

2.3.2.2. Monoklonale Antikörper gegen Epithelzellen

Tü 25: Dieser mAk erkennt Thymusepithelien. An Gefrierschnitten wird von diesem Antikörper auch das Stratum basale des unverhornten Plattenepithels markiert (ZIEGLER, persönliche Mitteilung, 1984).

2.3.2.3. Monoklonale Antikörper gegen HLA-Antigene

2.3.2.3.1. Monomorphe Antikörper

W6/32.HL: Dieser mAk richtet sich gegen eine gemeinsame Determinante aller schweren Ketten der HLA-ABC Antigene (BARNSTABLE et al., 1978).

W6/32.HK: Dieses Serum entspricht der inaktiven Variante des Antikörpers W6/32.HL. Es wurde als negative Kontrolle eingesetzt, um unspezifische Gewebemarkierungen aufzudecken (ZIEGLER et al., 1979).

Tü 34 u. Tü 36: Diese mAk reagieren mit monomorphen Determinanten aller HLA-DR Antigene (PAWELEC et al., 1982).

Tü 35, 37 u. Tü 43: Diese mAk erkennen ebenfalls monomorphe Determinanten der HLA-DR Antigene. Daneben reagieren diese Antikörper mit einem Teil der SB Antigene (PAWELEC et al., 1982).

Tü 39: Dieser mAk richtet sich gegen eine monomorphe Determinante aller HLA-DR, sowie aller SB Antigene (PAWELEC et al., 1982).

Tü 22: Dieser mAK erfaßt HLA-DQw1, HLA-DQw2 und HLA-DQw3 Antigene (SHAW et al., zur Veröffentlichung angenommen).

2.3.2.3.2. Polymorphe Antikörper

Sc 6290: Der mAk erkennt eine gemeinsame Determinante auf HLA-Molekülen der Spezifität A2 und A28 (FERRONE, Dept. of Pathol., Columbia Univ. NY, USA; unveröffentlichte Ergebnisse).

MA 2.1: Dieser mAk ist gegen eine Antigendeterminante gerichtet, die den HLA-Spezifitäten A2 und B17 gemeinsam ist (McMICHAEL et al., 1980).

ME 1: Dieser mAk erkennt eine gemeinsame Determinante von HLA-B27, HLA-B7 und HLA-B22 (ELLIS et al., 1982).

MB 40.2: Der mAk reagiert mit HLA-B Lokus Molekülen der Spezifität B7 und B40 (PARHAM et al., 1981).

Tü 48: Dieser mAk reagiert mit HLA Molekülen der Spezifität A23, A24, A32 sowie Bw4 (MUELLER et al., 1982)

2.4. Objektherstellung

Die Gewebeproben wurden sofort nach Entnahme in RPMI 1640 gegeben und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Von solchen Gewebsblöcken wurden mit dem Kryotom 4-5 x 10^{-6}m dicke Gewebsschnitte hergestellt, die man jeweils für eine Stunde an der Luft bei Zimmertemperatur trocknen ließ und danach bei 10 Torr lyophilisierte. Nach einer 10-minütigen Fixation in Aceton wurden an den Gewebsschnitten die einzelnen Antikörpermarkierungen durchgeführt.

2.4.1. Immunhistologische Färbung

Die Markierung mit mAk wurde mit Hilfe der indirekten Immunoperoxidasetechnik (STEIN et al., 1980; MUELLER et al., 1983) und diejenige mit Antiimmunglobulinseren in der Peroxidase-Anti-Peroxidase (PAP)-Technik durchgeführt (STERNBERGER et al., 1970).

2.4.1.1. Indirekte Immunoperoxidasetechnik

Der jeweilige Schnitt wurde mit einem mAk für 30 Minuten bei 37 Grad C in einer feuchten Kammer inkubiert. Nach 2-3 maligem Spülen mit einem 0,1M NaCl/ 0,001M Trispuffer (pH 7,4) wurde eine zweite Inkubation unter denselben Bedingungen wie zuvor durchgeführt. Man überschichtete dazu den jeweiligen Schnitt mit dem Peroxidase-konjugierten Anti-Maus IgG. Nach einem weiteren Spülvorgang (s.o.) entwickelte sich spezifische Braunfärbung an der Bindungsstelle des ersten Antikörpers durch die Reaktion der gebundenen Peroxidase des zweiten Antikörpers mit 0,06 %igem 3',3' Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid unter Zugabe von 0,003 %igem Wasserstoffperoxid in 0,05M Tris/HCl Puffer (pH 7,6). Danach wurde erneut gespült und mit MAYER'S Hämalaun innerhalb 10 Minuten gegengefärbt.

Nachdem man die Schnitte mit dem Spülpuffer (s.o.) gebläut hatte, wurden sie in KAISER'S Glyceringelatine eingebettet und lichtmikroskopisch ausgewertet.

2.4.1.2. PAP-Technik

Die Schnitte inkubierte man mit dem entsprechenden Anti-immunglobulinserum bei 37 Grad C in einer feuchten Kammer innerhalb von 3 Minuten. Nach 3-maligem Spülen mit dem 0,1M NaCl/0,001M Trispuffer (pH 7,4) wurde in einem zweiten 3-minütigem Inkubationsschritt das Antikaninchenserum zugegeben. Nachdem man wieder gespült hatte, wurde der Peroxidase-Anti-Peroxidase (PAP)-Komplex (DAKO/Kopenhagen, Dänemark), der im Verhältnis 1 : 40 mit 1 %iger Rinderserumalbuminlösung in 0,1M NaCl/0,001M Trispuffer (pH 7,4) verdünnt wurde, in einer 30-minütigen Reaktion bei 37 Grad C an den zweiten Antikörper gebunden. Der Nachweis der Bindungsstelle der Antikörper und die Gegenfärbung wurde dann wie bei der indirekten Immunoperoxidasetechnik durchgeführt. Als Negativkontrolle wurde bei diesem Test RPMI 1640 anstelle des ersten Antikörpers eingesetzt.

2.5. Beurteilung der immunologischen Reaktionen

Mit den jeweiligen Negativkontrollen beobachtete man leichte unspezifische Färbungen von Hassall'schen Körperchen und bindegewebigen Fasern in den Septen der Thymi. Vereinzelt wurden auch große, runde Zellen, vor allem im cortikomedullären Übergang und in den Thymusseptен gelegen, durch eine starke intrazelluläre Markierung unspezifisch aufgezeigt. Bei den Analysen wurden alle Zellen, deren Oberfläche rundum gefärbt war, als positiv markiert betrachtet, d.h. als Zellen die mit dem jeweiligen Antikörper reagierten. Bei intrazellulärer Bindung der Antikörper konnte über eine gleichzeitige Reaktion an der Zelloberfläche keine Aussage

gemacht werden.
Um die Anzahl positiver Zellen im Verhältnis zur gesamten Zellpopulation genauer bestimmen zu können, wurden einzelne Gesichtsfelder (Vergrößerung 250-fach) ausgezählt. Die Dichte positiver Zellen konnte dann grob in ein 5-stufiges Schema unterteilt werden:

vereinzelt positive Zellen	= ca.	1- 5 % aller Zellen
einige positive Zellen	= ca.	10-30 % aller Zellen
ca. die Hälfte aller Zellen	= ca.	40-60 % aller Zellen
fast alle Zellen	= ca.	70-90 % aller Zellen
alle Zellen	=	100 % aller Zellen

3. E R G E B N I S S E

3.1. Reaktionsmuster der Antiimmunglobulinseren

3.1.1. Normaler Thymus

Medullär ließen sich sowohl mit dem anti IgD-, als auch mit dem anti IgM-Serum nur vereinzelte (ca. 1%) Zellen der Medulla stark markieren. Im Cortex dieser Thymusdrüsen wurden keine Zellen markiert (Tab. III).

3.1.2. Follikuläre Thymushyperplasie

IgM konnte auf einigen (10-20%) der medullären Zellen nachgewiesen werden. Diese Zellen waren teilweise in Zellhaufen, teilweise weit verstreut in der Medulla gelegen.
Daneben wiesen auch fast alle Zellen des Follikelmantels, sowie große runde Zellen des Follikelzentrums IgM auf. Die Interzellularsubstanz des Follikelzentrums ließ sich ebenfalls durch das anti IgM-Serum leicht anfärben.
IgD konnte in den extrafollikulären Bereichen der Medulla nur auf vereinzelten (ca. 1%) Zellen nachgewiesen werden. Dagegen zeigte sich auf ca. der Hälfte aller Follikelmantelzellen eine positive Reaktion mit dem anti IgD-Serum. Das Follikelzentrum war durch dieses Serum nicht markiert. Bei beiden Antiimmunglobulinmarkierungen war das cortikale Gewebe regelmäßig frei von positiven Zellen (Tab. III).

3.1.3. Thymom

In Bereichen mit gefäßähnlichen Strukturen ließen sich sowohl in den beiden malignen Thymomen, als auch im benignen Thymom nur vereinzelte (ca. 1%) Zellen durch das anti IgM- oder das anti IgD-Serum aufzeigen. Im überwiegenden Teil des Thymomgewebes traten jedoch keine positiven Zellen auf (Tab. III).

3.2. Reaktionsmuster der T-Zellantikörper

3.2.1. Normaler Thymus

Mit dem mAk T 28 wurden fast alle cortikalen Zellen (80-90%) und ca. die Hälfte der medullären Zellen stark markiert. Dasselbe Reaktionsmuster fand sich im normalen Thymus mit dem mAk OKT 3, wobei jedoch eine geringere Färbeintensität besonders im Cortex zu beobachten war. Der mAk OKT 4 war cortikal an fast allen (80-90%) Zellen positiv, zeigte aber Unterschiede in der Reaktionsstärke. Medullär wurden durch diesen Antikörper bis zu 30% der Zellen schwach gefärbt. OKT 6 und OKT 8 reagierten mit fast allen cortikalen (80-90%) Zellen. In der Medulla wiesen nur vereinzelte Zellen (1-5%) eine starke Markierung durch den mAk OKT 6 auf. OKT 8 zeigte auf ca. 10% der medullären Zellen eine starke Membranfärbung (Tab. IV).

3.2.2. Follikuläre Thymushyperplasie

Insgesamt entsprachen die Reaktionsmuster der einzelnen T-Zellantikörper denjenigen des normalen Thymus. Allerdings waren die markierten Zellen der Medulla nicht mehr gleichmäßig verteilt, sondern verdichteten sich im cortikomedullären Übergang, sowie um Follikel und einzelne negative Zellhaufen. In diesen Bereichen waren bis zu 70% der Zellen durch T 28 und OKT 3, ca. die Hälfte der Zellen durch OKT 4, bis zu 30% der Zellen durch OKT 8 und ca. 10% der Zellen durch OKT 6 positiv gefärbt. Die übrigen medullären Zonen, insbesondere Follikel wiesen kaum Zellen auf, die mit diesen mAk reagierten (Tab. IV).
In Follikeln waren lediglich wenige Zellen in Mantel und Zentrum durch OKT 3, OKT 4, OKT 8 oder T 28 markiert. Zwischen Mantel und Zentrum des Follikels wurde ein schmales Band von Zellen beobachtet, die sich mit OKT 3, OKT 4 oder T 28 darstellen ließen. Alle follikulären Zellen waren negativ für den mAk OKT 6.

3.2.3. Thymom

In den beiden Thymomen Myastheniekranker trugen 70-80% der Zellen T-Zellmerkmale, wobei die mAk OKT 3 und OKT 4 auf diesen Zellen eine schwächere Markierung zeigten, als die Reagenzien OKT 6, OKT 8 oder T 28. In den verhältnismäßig kleinen Gebieten mit gefäßähnlichen Strukturen reagierten die mAk T 28 und OKT 3 mit fast allen (80-90%) Zellen. OKT 4 färbte hier ca. die Hälfte, OKT 6 bis zu 20% und OKT 8 ca. 30% aller Zellen (Tab. IV).
Im benignen Thymom wurden fast alle (ca. 90%) Zellen von den jeweiligen T-Zellantikörpern erfaßt. Dabei gestaltete sich die Reaktivität ähnlich wie im malignen Thymom; OKT 3 und OKT 4 boten eine schwächere Färbung als die mAk OKT 6, OKT 8 oder T 28. Areale mit gefäßähnlichen Strukturen ließen sich wiederum durch ein anders geartetes Reaktionsmuster vom übrigen Gewebe abgrenzen. In diesen relativ kleinen Gebieten markierten OKT 3 und T 28 ca. 90% der Zellen, während OKT 4 ca. die Hälfte und OKT 6 und OKT 8 jeweils 20-30% aller Zellen erfaßten.

3.3. Reaktionsmuster der B-Zellantikörper

3.3.1. Normaler Thymus

Tü 1 reagierte mit sehr wenigen medullären Zellen. Cortikale Zellen wurden von diesem mAk nicht erfaßt.
Tü 11 färbte um den Cortex eine dünne Kapselschicht, wobei lichtmikroskopisch nicht eindeutig zwischen faserigen oder zellulären Strukturen unterschieden werden konnte. In zwei Thymusdrüsen trugen Zellen mit langen, stark verzweigten Fortsätzen, innerhalb des Cortex gelegen, Tü 11 positive Oberflächenmerkmale. Diese Zellen lagen im äußeren Cortex dichter als im Cortexinneren. Die übrigen analysierten normalen Thymusdrüsen zeigten cortikal nur wenige Bruchstücke von Membranfortsätzen durch diesen mAk gefärbt. (Tab. V).

In der Medulla erkannte der mAk Tü 11 in allen untersuchten normalen Thymusdrüsen große Zellen mit kurzen Fortsätzen, die gleichmäßig verteilt waren. Zusätzlich markierte dieser mAk eine Zellschicht um Hassall'sche Körperchen und um einige gefäßähnliche Strukturen, sowie Fasern des Interzellularraums.

3.3.2. Follikuläre Thymushyperplasie

Tü 1 reagierte in der Medulla mit sehr wenigen extrafollikulären Zellen. Es färbten sich jedoch im Follikelzentrum fast alle Zellen sowie die Interzellularsubstanz gleichmäßig stark an. Die meisten Follikel zeigten auch einen unterschiedlich breiten Mantel von Tü 1 positiven kleinen Zellen (Abb. 1). Das cortikale Gewebe der follikulären Thymushyperplasie war wie im normalen Thymus negativ für Tü 1.

Auch Tü 11 war positiv an allen medullären Keimzentren. Im Follikelzentrum fiel die Interzellularsubstanz durch eine schwächere Bräunung auf, die zur starken Reaktivität dieses mAk an großen runden Zellen kontrastierte. Auch die Hälfte der Zellen des Follikelmantels trugen das Tü 11 positive Oberflächenmerkmal.
In der extrafollikulären Medulla wurden mit diesem mAk große Zellen mit kurzen Fortsätzen sowie faserige interzelluläre Strukturen gefärbt. Diese Zellen verdichteten sich um zelldichte Areale, Hassall'sche Körperchen, gefäßähnliche Strukturen und in unterschiedlichem Abstand um Keimzentren. Neben diesen großen Zellen wurden von Tü 11 auch kleine runde Zellen erfaßt, die teilweise in Zellhaufen, teilweise diffus in der Medulla auftraten.
Cortikal konnten mit dem mAk Tü 11 in allen untersuchten Thymushyperplasien große Zellen mit langen, stark verzweigten Fortsätzen aufgezeigt werden, wobei sich diese Zellen im äußeren Cortex zu verdichten schienen. Wie im normalen Thymus wurde auch in der follikulären Thymushyperplasie

eine dünne Kapsel um den Cortex durch diesen Antikörper angefärbt.

3.3.3. Thymom

Tü 1 erfaßte in den beiden malignen Thymomen nur sehr wenige Zellen der Bezirke mit gefäßähnlichen Strukturen (ca. 1%). Das übrige Gewebe war für Tü 1 negativ.
Tü 11 färbte dagegen in den malignen Thymomen große Zellen mit kurzen Fortsätzen. Diese Zellen waren annähernd gleichmäßig im gesamten Gewebe verteilt und fehlten lediglich in Bereichen mit gefäßähnlichen Strukturen. Hier wurden nur vereinzelte Zellen (ca. 1%) durch diesen mAk markiert. Sowohl mit dem mAk Tü 1 als auch mit Tü 11 ließen sich im benignen Thymom nur sehr wenige Zellen in den Bereichen mit gefäßähnlichen Strukturen nachweisen (ca. 1%). Das übrige Gewebe war im benignen Thymom für beide Antikörper negativ.

3.4. Reaktionsmuster des Antikörpers gegen Thymusepithelien

3.4.1. Normaler Thymus

In allen untersuchten normalen Thymusdrüsen färbte Tü 25 eine dünne Kapselschicht um den Cortex, die aus länglichen Zellen mit kurzen Fortsätzen bestand. Intrakortikal wurden nur in den Thymusdrüsen, deren Cortex ebenfalls Tü 11 positive Zellen enthielt, eine Markierung durch Tü 25 beobachtet (Tab. V). Hier wurden große Zellen mit stark verzweigten Fortsätzen aufgezeigt, die sich direkt unter der Cortexkapsel zu verdichten schienen. In den übrigen Thymusdrüsen waren wenige Bruchstücke von Tü 25 positiven Membranfortsätzen aufgezeigt. Medullär fanden sich mit diesem mAk große, teilweise längliche, teilweise runde Zellen mit kurzen Fortsätzen positiv markiert. Solche Zellen waren gleichmäßig in der Medulla verteilt und bildeten eine

Zellschicht um Hassall'sche Körperchen und einige gefäßähnliche Strukturen (Abb. 2).

3.4.2. Follikuläre Thymushyperplasie

Wie im normalen Thymus wurde durch Tü 25 eine dünne Kapsel um den Cortex gefärbt, die aus länglichen Zellen mit kurzen Fortsätzen bestand. Intracortikal ließen sich in allen untersuchten Thymushyperplasien mit diesem mAk große Zellen mit stark verzweigten, langen Fortsätzen aufzeigen. Diese Zellen zeigten sich vor allem direkt unter der Cortexkapsel, ließen sich aber auch im Cortexinneren beobachten. In der Medulla wurden auch in der follikulären Thymushyperplasie wie im normalen Thymus große Zellen mit kurzen Fortsätzen durch diesen mAk aufgezeigt. Diese Zellen verdichteten sich um Hassall'sche Körperchen, zelldichte Areale, gefäßähnlichen Strukturen und in unterschiedlichem Abstand um Follikel (Abb. 3).

3.4.3. Thymom

In den beiden malignen Thymomen zeigten sich große Tü 25 positive Zellen mit kurzen Fortsätzen, gleichmäßig im Gewebe verteilt. Die relativ kleinen Bezirke mit gefäßähnlichen Strukturen waren allerdings frei von solchen Zellen.
Das benigne Thymom zeigte mit dem mAk Tü 25 keine positive Markierung.

3.5. Reaktionsmuster der Antikörper gegen HLA-Antigene

3.5.1. Monomorphe Antikörper

3.5.1.1. Normaler Thymus

Mit dem mAk W6/32.HL, der gegen alle HLA-ABC Antigene gerichtet ist, wurden medullär alle Zellen gleichmäßig stark gefärbt. Cortikal fanden sich ebenfalls fast alle Zellen positiv markiert, es zeigten sich jedoch deutliche Intensitätsunterschiede in der Markierung durch diesen mAk. Große Zellen mit stark verzweigten, langen Fortsätzen und kleine runde Zellen in deren unmittelbaren Nachbarschaft waren stärker gefärbt als die übrigen kleinen runden Zellen (dichtes dentritisches Reaktionsmuster in Abb. 4).

Tü 34, 35, 36, 37, 39 und Tü 43, die unterschiedliche HLA-D Regionen Antigene erkennen, zeigten ebenfalls eine Markierung fast aller medullären Zellen. Allerdings ist die Färbung an diesen Zellen eher interzellulär konfluierend. Cortikal färbten sich unterschiedlich große Zellen mit langen stark verzweigten Fortsätzen durch diese mAk an. Kleine runde Zellen, die direkten Kontakt zu diesen positiven Fortsätzen hatten, waren stellenweise an ihrer Membran gefärbt (weites dentritisches Reaktionsmuster in Abb. 5).

Tü 22, gegen HLA-DC/MB/DS Merkmale gerichtet, markierte annähernd die Hälfte der medullären Zellen durch eine gleichmäßig starke, jedoch verwaschene Färbung. Cortikal führte die Bindung dieses mAk ebenfalls zur Ausbildung eines weiten dentritischen Reaktionsmusters.

3.5.1.2. Follikuläre Thymushyperplasie

Die Reaktivität des mAk W6/32.HL entsprach in Gefrierschnitten der untersuchten follikulären Thymushyperplasien derjenigen des normalen Thymus. Follikuläre Zellen waren

wie die übrigen medullären Zellen gleichmäßig stark gefärbt.

Auch die mAk Tü 34, 35, 36, 37, 39 und Tü 43 banden in den untersuchten Thymushyperplasien, wie im normalen Thymus, an fast alle medullären Zellen. Es zeigte sich auch hier eine konfluierende, interzellulaere Färbung. Fast alle Zellen der Follikel boten dagegen eine starke, klare Färbung ihrer Zelloberfläche. Die Interzellularsubstanz der Follikelzentren war ebenfalls stark gebräunt.
Cortikal wurden, wie im normalen Thymus, große Zellen mit langen, stark verzweigten Fortsätzen aufgezeigt. Allerdings zeigte sich im Vergleich zum normalen Thymus eine Zunahme positiver Zellen, die sich nicht gleichmäßig im Cortex darstellte. Regellos verstreute Felder, in denen alle Zellen regelmäßig stark gefärbt erschienen (Abb. 6a), wechselten mit cortikalen Zonen, die ein weites dentritisches Reaktionsmuster aufwiesen (Abb. 6b).

Mit dem mAk Tü 22 war medullär annähernd die Hälfte aller Zellen positiv markiert. Wie im normalen Thymus zeigten die Zellen eine konfluierende Markierung. Fast alle Zellen in Follikelmantel und Zentrum wurden durch eine klare Markierung aufgezeigt. Die Interzellularsubstanz der Follikelzentren bot ebenfalls eine starke Braunfärbung.
Cortikal boten die einzelnen Thymushyperplasien durch die Markierung mit diesem mAk ein ähnliches Bild wie mit den übrigen D-Region Antikörper.

3.5.1.3. Thymom

Mit dem mAk W6/32.HL zeigte sich eine gleichmäßige Färbung aller Zellen der malignen Thymome und des benignen Thymoms.

Mit dem mAk Tü 34, 35, 36, 37, 39 und Tü 43 fanden sich in allen drei untersuchten Thymomen fast alle Zellen der Bezirke mit gefäßähnlichen Strukturen durch die konfluierende

Färbung aufgezeigt. In den übrigen Regionen der malignen Thymome reagierten diese Antikörper mit einigen (10-20%) großen Zellen mit kurzen Fortsätzen. Die übrigen Zellen waren negativ. Dagegen fanden sich in den entsprechenden Gewebeabschnitten des benignen Thymoms nur vereinzelte große Zellen mit kurzen Fortsätzen (1-5%) markiert. Die übrigen Zellen waren auch hier negativ.

Der mAk Tü 22, der an HLA-DC/DS/MB Merkmale bindet, zeigte fast alle Zellen der Bereiche mit gefäßähnlichen Strukturen im benignen Thymom und in den beiden malignen Thymomen durch eine verwaschene Färbung auf. In den malignen Thymomen wurden im übrigen Gewebe einige große Zellen (10-20%) mit kurzen Fortsätzen aufgezeigt. Das benigne Thymom wies hier nur vereinzelt (1-5%) solche Zellen auf. Die übrigen Zellen waren in allen drei untersuchten Thymomen negativ für Tü 22.

3.5.2. Polymorphe Antikörper gegen HLA-Merkmale

3.5.2.1. Normaler Thymus

Mit nahezu allen polymorphen HLA-Klasse I Antikörpern wurde eine gleichmäßige, starke Markierung fast aller medullären Zellen (70-90%) beobachtet. Eine Ausnahme bestand lediglich im Reaktionsmuster von Tü 48, der in Thymusdrüsen von HLA-Bw4 positiven Spendern, nur ca. die Hälfte der medullären Zellen markierte.
Unterschiede des cortikalen Reaktionsmusters zeigten sich auch bei den übrigen HLA-Klasse I Antikörpern. So ergaben die Markierungen mit den mAk ME 1 und MB 40.2, die gegen das gleiche HLA-B Lokus Antigen gerichtet sind, unterschiedlich dichte dentritische Reaktionsmuster in Thymi von HLA-B7 positiven Spendern. Ähnliche Variationen in der Markierung cortikaler Zellen ließen sich auch mit den mAk MA 2.1 und Sc 6290 gegen HLA-A2 Antigene nachweisen. Tü 48 erkannte bei HLA-Bw 4 positiven Thymusspendern keine corti-

kalen Zellen (Tab. VI).

3.5.2.2. Follikuläre Thymushyperplasie

Im extrafollikulären Gewebe der Medulla sowie im Cortex entsprechen die Reaktionsmuster der einzelnen polymorphen HLA-Klasse I Antikörper denjenigen des normalen Thymus. Für die Untersuchung wurden sie dem HLA-Phänotyp der einzelnen Thymusspender entsprechenden mAk eingesetzt: Tü 48 (HLA-Bw4), Sc 6290 (HLA-A2) und MA 2.1 (HLA-A2).
Nahezu alle Zellen in Follikelmantel und Zentrum wurden von den mAk Sc 6290 und Ma 2.1 bei HLA-A2 positiven Spendern gefärbt. Tü 48 erfaßte dagegen in den markierten Thymushyperplasien nur etwa die Hälfte aller follikulären Mantelzellen und färbte die Interzellularsubstanz des Follikelzentrums. Von dieser markierten Interzellularsubstanz hoben sich große, runde Zellen aufgrund einer stärkeren Oberflächenreaktion ab (Tab. VI).

3.5.2.3. Thymom

Die Exprimierung polymorpher HLA-Klasse I Antigene wurde nur an einem malignen Thymom analysiert, dessen Spender HLA-typisiert worden war (Nr. 18). Dabei wurden die mAk Sc 6920 (HLA-A2) MB 40.2 (HLA-B7) und ME 1 (HLA-B7) angewandt.
Alle diese mAk markierten einige (10-20%) große Zellen mit kurzen Fortsätzen und vereinzelt kleine Zellen (1-5%), wobei diese Zellen gleichmäßig im Gewebe verteilt waren.
Lediglich Areale mit gefäßähnlichen Strukturen zeigten fast alle Zellen (70-90%) durch obige mAk markiert (Tab. VI).

4. DISKUSSION

4.1. B-Zellsubpopulationen und B-Zellfollikel im pathologischen Thymus

Verschiedene Autoren wiesen eine Vermehrung von B-Zellen in Thymuszellsuspensionen Myastheniekranker nach (ABDOU et al., 1974; STABER et al., 1975; COOK et al., 1977; LISAK et al., 1978; AARLI et al., 1979). Unterschiedliche Meinungen werden jedoch darüber vertreten, ob die im Myastheniethymus vermehrt gefundenen B-Zellen ausschließlich von medullären Keimzentren herrühren. Anhand des immunhistologischen Nachweises von Complementrezeptoren diskutierten AARLI et al. (1979), daß B-Zellen in der follikulären Thymushyperplasie medullär in Keimzentren und diffus verstreut auftreten. Im Myastheniethymom beobachten diese Autoren solche Zellen in T-Zell freien Arealen. Demgegenüber konnten STABER et al. (1975) mit Hilfe derselben Technik eine B-Zellvermehrung ausschließlich B-Zellfollikeln der follikulären Thymushyperplasie zuordnen. In einem von diesen Autoren untersuchten Myastheniethymom ließen sich weder B-Zellfollikel noch C-Rezeptoren tragende Thymozyten nachweisen.

In vorliegender Untersuchung zeigte die IgM-Markierung in der follikulären Thymushyperplasie eine ähnliche B-Zellverteilung, wie sie von AARLI et al. (1979) diskutiert wurde. IgM positive B-Zellen fanden sich medullär auch außerhalb von Keimzentren diffus verstreut. Daneben zeigten sich medullär IgM positive Zellhaufen, die kein IgD aufwiesen. Dieses spricht dafür, daß diese B-Zellen nicht Primärfollikeln angehören, die im allgemeinen IgD exprimieren (STEIN et al., 1980; BHAN et al., 1981). Auch stellten die IgM positiven Zellhaufen keine Sekundärfollikel dar, die in Mantelebene angeschnitten wurden, da die Mantelzone der medullären Keimzentren IgM und IgD positive Zellen enthielt. Vielmehr könnten diese B-Zellhaufen auf einer einseitigen Proliferation von IgM positiven IgD negativen unreifen B-

Zellen beruhen, die im normalen Thymus mit hoher Wahrscheinlichkeit vorhanden sind.

Wie die Immunglobulinmarkierungen wiesen auch die Reaktionsmuster von Tü 1 und Tü 11 auf eine Vermehrung medullärer B-Zellen in der follikulären Thymushyperplasie Myasthenikranker hin. Dabei schien die Verteilung der Tü 11 positiven B-Zellen in Keimzentren und zelldichten Arealen der IgM-Markierung zu entsprechen. Bei den übrigen Tü 11 positiven Zellen in Cortex und Medulla handelte es sich nach morphologischen Gesichtspunkten nicht um B-Zellen, sondern um epitheliale Zellen, deren Verteilung in einem gesonderten Kapitel analysiert wird (s. dort). Die Vermehrung Tü 1 positiver B-Zellen der follikulären Thymushyperplasie beschränkte sich auf medulläre Keimzentren.

Nach TOMAOKI et al. (1971) entsprechen die Keimzentren der follikulären Thymushyperplasie in ihrem histologischen und histochemischen Aufbau denjenigen anderer lymphatischer Organe. Auch die vorliegenden immunhistologischen Färbungen zeigten keine wesentlichen Unterschiede zu normalen Keimzentren. Wie von anderen Autoren am normalen Keimzentrum beschrieben (STEIN et al., 1980; BHAN et al., 1981; MASON et al., 1981), exprimierten auch in der follikulären Thymushyperplasie fast alle Zellen der medullären Keimzentren IgM, und ca. die Hälfte der Zellen des Follikelmantels IgD. Ebenso entsprach die Markierung mit dem mAk Tü 1 an Keimzentren der Thymushyperplasie der von ZIEGLER et al. (1981) an normalen Keimzentren dargestellten Reaktivität. Desgleichen wies auch das Reaktionsmuster des mAk Tü 11 an normalen Lymphfollikeln keine entscheidenden Unterschiede zum Hyperplasiefollikel auf (MUELLER, persönliche Mitteilung).

Die drei untersuchten Thymome zeigten keine Vermehrung von B-Zellen. Da die Regionen ohne B-Zellen gegenüber den Arealen mit nahezu normalem medullären B-Zellanteil überwogen, kann man annehmen, daß in den Thymomen B-Zellen gegenüber dem normalen Thymus eher vermindert sind.

4.2. In situ-Analyse der T-Zelldifferenzierungstadien im pathologischen Thymus

Über den T-Zellanteil in Thymuszellsuspensionen von Myastheniepatienten werden von verschiedenen Autoren unterschiedliche Angaben gemacht. Während COOK et al. (1977) und LISAK et al. (1978) eine deutliche Abnahme des T-Zellanteils feststellen konnten, wurde er von ABDOU et al. (1974), STABER et al. (1975) und AARLI et al. (1979) als annähernd normal beurteilt. Bei der immunhistologischen Anwendung der E-Rosettentechnik konnten AARLI et al. (1979) jedoch eine Vermehrung medullärer T-Zellen in der follikulären Thymushyperplasie beobachten. Auch die von diesen Autoren untersuchten Myastheniethymome ließen eine T-Zellvermehrung erkennen: Während T-Zellen im normalen Thymus hauptsächlich cortikal nachgewiesen werden konnten, schienen Myastheniethymome bei fehlenden medullären Anteilen gleichmäßig mit T-Zellen durchsetzt zu sein.

Auch mit den monoklonalen Antikörpern gegen T-Zellen ließ sich in der Medulla von follikulären Thymushyperplasien stellenweise eine Vermehrung von T-Zellen besonders um Lymphfollikel und B-Zellhaufen beobachten. Dabei exprimierten diese T 28 positiven T-Zellen wie normale medulläre T-Zellen (BHAN et al., 1980) das Antigen reifer T-Zellen des Blutes (OKT 3 positiv). Die Verteilung der T-Zellsubpopulationen in OKT 4 positive Helfer T-Zellen und OKT 8 positive Suppressor/zytotoxische T-Zellen verhielt sich wie in der normalen Medulla. Ebenso zeigten in der follikulären Thymushyperplasie wie im normalen Thymus relativ wenige medulläre T-Zellen einen OKT 6 positiven Phänotyp als Zeichen eines noch unreifen Differenzierungsstadiums. Dieses Merkmal blieb auch hier hauptsächlich cortikalen T-Zellen vorbehalten.
Ob die Medulla der follikulären Thymushyperplasie insgesamt mehr T-Zellen aufwies als diejenige des normalen Thymus, kann allerdings nicht mit letzter Sicherheit beurteilt wer-

den. Im Gegensatz zum normalen Thymus, in dem die medullären T-Zellen fast gleichmäßig verteilt waren, zeigten sich in der Medulla des hyperplastischen Thymus neben T-Zell reichen Zonen auch Areale, die kaum T-Zellen enthielten. Lymphfollikel oder B-Zellhaufen wiesen nur wenige T-Zellen auf.

Im Lymphfollikel waren die T 28 positiven T-Zellen bandartig zwischen Mantel und Zentrum angeordnet und vereinzelt im übrigen Zentrum, sowie im Mantel des Follikels zu beobachten. Entsprechend den Sekundärfollikeln des Lymphknotens (POPPEMA et al., 1981) zeigten die meisten dieser OKT 3 positiven T-Zellen den OKT 4 positiven Phänotyp von Helfer T-Zellen, während dazwischen, locker verteilt, Suppressor/zytotoxische T-Zellen (OKT 8 positiv) nachgewiesen werden konnten. Unreife T-Zellen (OKT 6 positiv) waren auch in den Keimzentren des hyperplastischen Thymus nicht zu beobachten.
Auffällig war in allen Thymushyperplasien, daß B-Zellfollikel von einer Zone dicht gelagerter T-Zellen umgeben waren, die normalen T-Zonen des Lymphknotens entsprechen könnten. Allerdings waren in den parafollikulären Bereichen des hyperplastischen Thymus regelmäßig OKT 6 positive Zellen nachweisbar, die nicht in allen T-Zonen des Lymphknotens vorkommen (POPPEMA et al., 1981).

In den beiden Myastheniethymomen und im benignen Thymom überwogen im Vergleich zum normalen Thymus die cortikalen T-Zellen. Sie zeigten den Phänotyp unreifer T-Zellen (OKT 6 positiv) und auch ihre übrigen Oberflächenmerkmale entsprachen denjenigen normaler cortikaler T-Zellen, d.h. sie trugen neben dem OKT 3 positiven Antigen ebenfalls noch die Antigene von Helfer T-Zellen (OKT 4 positiv) und von Suppressor/zytotoxischen T-Zellen (OKT 8 positiv).
In den verhältnismäßig gering ausgeprägten Bereichen mit gefäßähnlichen Strukturen waren sowohl in den beiden malignen Thymomen als auch im benignen Thymom T-Zellen nach-

weisbar, deren Oberflächenmerkmale sie als reife medulläre T-Zellen (OKT 3 positiv) auswiesen. Diese T-Zellen stellten etwa gleich häufig wie in der normalen Medulla Helfer T-Zellen (OKT 6 negativ) oder Suppressor/zytotoxische T-Zellen (OKT 8 positiv) dar. Wie im normalen Thymus waren auch in den medullären Anteilen der Thymome verhältnismäßig wenige unreife T-Zellen (OKT 6 positiv) zu beobachten.

4.3. Verteilung von Epithelzellsubpopulationen im normalen und pathologischen Thymus

In dieser Untersuchung wurden die Tü 11 und Tü 25 positiven epithelialen Zellen untersucht. Die Reaktionsmuster der beiden Antikörper lassen vermuten, daß Tü 11 und Tü 25 dieselbe Subpopulation von Thymusepithelzellen aufzeigt:
Beide mAk färbten eine cortikale Kapselschicht.
Die Thymi Nr. 2 und Nr. 6 zeigten innerhalb ihres Cortex deutlich Tü 11 und Tü 25 positive Epithelzellen. Die übrigen normalen Thymusdrüsen wiesen intracortikal nur wenige Bruchstücke von markierten Membranfortsätzen auf, die auf eine vergleichsweise geringe Anzahl von Tü 11 und Tü 25 positiven epithelialen Zellen schließen lassen.
In der Medulla des normalen Thymus waren Tü 11 und Tü 25 positive Epithelzellen gleichmäßig verteilt. Beide Zellarten bildeten eine Schicht um Hassall'sche Körperchen und einige gefäßähnliche Strukturen.

In der follikulären Thymushyperplasie waren die medullären Tü 11 und Tü 25 positiven epithelialen Zellen ungleichmäßig verteilt. Diese Zellen bildeten 'breite Straßen' um Hassall'sche Körperchen, einige Gefäße und Lymphozyten reiche Areale. In Keimzentren und den benachbarten T-Zonen waren diese Zellen nicht zu beobachten. Vielmehr schienen diese Bereiche von der übrigen Medulla durch bandartig angeordnete Tü 11 und Tü 25 positive Epithelzellen ausgeschlossen zu werden. Dieses würde für die Hypothese von

LEVINE und ROSAI (1978) sprechen, daß die Keimzentren der follikulären Thymushyperplasien nicht der Medulla sondern der extraparenchymalen Zone angehören, die von der Medulla durch eine epitheliale Basalmembran abgegrenzt wird.

Im Gegensatz zu den meisten normalen Thymusdrüsen wiesen alle Thymushyperplasien deutlich Tü 11 und Tü 25 positive epitheliale Zellen innerhalb des Cortex auf. Diese Zellen lagen vor allem unter der Cortexkapsel, die wie im normalen Thymus ebenfalls durch diese mAk markiert wurde.
Auch in den beiden malignen Thymomen Myastheniekranker konnten im cortexähnlichen Gewebe häufiger als im normalen Cortex solche Epithelzellen beobachtet werden. Die Morphologie der aufgezeigten Epithelzellen des malignen Thymoms unterschied sich jedoch von derjenigen cortikaler Tü 11 und Tü 25 positiven Epithelzellen aufgrund der kürzeren Membranfortsätze.
Im benignen Thymom des Myastheniegesunden waren keine Tü 11 und Tü 25 positiven epithelialen Zellen nachweisbar.

Die Vermehrung von Epithelzellsubpopulationen im Myasthenie thymus könnte für den Pathomechanismus der MG von Bedeutung sein. DALAKAS et al. (1980) beobachteten im Myasthenie thymus vermehrt epitheliale Zellen, die Thymosin alpha 1, ein thymuseigenes Hormon vermehrt sezernieren. Thymuseigene Hormone beeinflussen wahrscheinlich humorale Immunreaktionen, beschleunigen das Zellwachstum oder nehmen Einfluß auf die T-Zellreifung oder Differenzierung (TRIVERS and GOLDSTEIN, 1980). Die Hypersekretion von thymuseigenen Hormonen aufgrund einer Proliferation einzelner Epithelzellsubpopulationen könnte demnach die Differenzierung von T-Zellen stören oder sekundär die Antikörperproduktion von B-Zellen induzieren und so die myasthenischen Symptome auslösen. So bewirken experimentell induzierte Thymititiden bei Meerschweinchen ein Myasthenie ähnliches Syndrom, das mit einer erhöhten hormonalen Aktivität des entzündeten Thymus in Zusammenhang zu stehen scheint. Die Frage ob die

mit obigen Antikörpern vermehrt gefundenen Epithelzellen des Myastheniethymus Hormone sezernieren, muß deshalb in weiteren Untersuchungen analysiert werden.

4.4. Unterschiede im Verteilungsmuster von HLA-Antigenen und deren mögliche Bedeutung für die T-Zellreifung

Reife medulläre T-Zellen exprimieren HLA-Klasse I Antigene in gleichem Maße wie medulläre epitheliale Zellen und interdigitäre Retikulumzellen. Unreife cortikale T-Zellen zeigen diese Antigene auf ihrer Zelloberfläche in schwächerer Ausprägung als epitheliale Zellen des Cortex (BHAN et al., 1980; JANOSSY et al., 1980; MUELLER et al., 1983).

In vorliegender Untersuchung sollte die HLA-Exprimierung in Thymusdrüsen Myastheniekranker im Vergleich zum normalen Thymus analysiert werden, um weiteren Aufschluß über eine eventuelle Störung der T-Zellreifung zu erhalten. Dabei zeigte sich in der follikulären Thymushyperplasie dieselbe Verteilung von HLA-Klasse I Antigenen wie im normalen Thymus, d.h. eine starke Expression dieser Antigene auf cortikalen epithelialen Zellen und allen medullären Zellen sowie ihre geringe Ausprägung auf cortikalen Thymozyten. Dieses konnte vor allem mit den mAk W6/32.HL und Sc 6290 gezeigt werden. Aber auch die Reaktivität der mAk MA 2.1. und Tü 48 unterschied sich in der follikulären Thymushyperplasie nicht von derjenigen des normalen Thymus.
Der mAk Tü 48 reagierte in vorliegender Untersuchung weder im normalen Thymus noch in der follikulären Thymushyperplasie mit cortikalen Zellen. Cortikale epitheliale Zellen müßten demnach auch in der follikulären Thymushyperplasie das Antigen HLA-Bw4 weniger stark exprimieren als die meisten medullären epithelialen Zellen.
In den beiden Myastheniethymomen und im benignen Thymom ließ sich eine ähnliche Verteilung von HLA-Klasse I Antigenen beobachten wie im normalen Thymus. Diese Merkmale waren

auf allen Zellen der medullaähnlichen Reste und auf epithelialen Zellen des cortexähnlichen Gewebes stärker ausgebildet als auf den unreifen, OKT 6 positiven Thymozyten.

In bisherigen Untersuchungen zeigte sich im Thymus die Expression von HLA-Klasse II Antigenen auf cortikalen und medullären Epithelzellen sowie auf interdigitären Retikulumzellen. Thymozyten erwiesen sich bisher als negativ für HLA-Klasse II Antigene (BHAN et al., 1980; JANOSSY et al., 1980).
Die Markierungen mit den mAk Tü 34, 35, 36, 37, 39 und Tü 43, weniger mit dem mAk Tü 22, deuten auf eine Exprimierung von HLA-Klasse II Antigenen, vor allem von SB Molekülen und HLA-DR Antigenen auf medullären T-Zellen hin. Aufgrund der konfluierenden Färbung medullärer Bezirke im normalen und hyperplastischen Thymus sowie im malignen und benignen Thymom konnte lichtmikroskopisch nicht eindeutig beurteilt werden, ob faserige Strukturen der Interzellularsubstanz, Membranfortsätze epithelialer Zellen oder die Oberfläche von T-Zellen durch obige mAk erfaßt wurden. Es bliebe daher elektronenmikroskopisch zu klären, ob medulläre T-Zellen mit diesen mAk reagieren, d.h. ob sie HLA-Klasse II Antigene exprimieren.

Cortikale T-Zellen wiesen weder im normalen Thymus, noch in den drei untersuchten Thymomen HLA-Klasse II Antigene als Oberflächenmerkmale auf. Die OKT 6 positiven Thymozyten im Cortex der follikulären Thymushyperplasien schienen diese Antigene jedoch stellenweise zu exprimieren, denn es zeigten sich in manchen cortikalen Bereichen fast alle Zellen durch die mAk Tü 22, 34, 35, 36, 37, 39 und Tü 43 rundum markiert.

BHAN et al. (1980) berichteten anhand immunhistologischer Analysen mit einem mAk gegen HLA-Klasse II Moleküle (OKT 1) im normalen Thymus von wenigen cortikalen T-Zellen, die wie die benachbarten Epithelzellen markiert waren. Da in

Thymuszellsuspensionen keine HLA-Klasse II positiven T-Zellen nachweisbar waren, führten diese Autoren obige Beobachtung darauf zurück, daß positiv gefärbte Membranfortsätze epithelialer Zellen negative T-Zellen einhüllen und dadurch markiert erscheinen lassen.

Die Reaktionsmuster von Tü 22, 34, 35, 36, 37, 39 und Tü 43 im Cortex von Thymushyperplasien Myastheniekranker sind mit den von BHAN et al. (1980) gemachten Beobachtungen nicht vergleichbar. Sie lassen sich nur dadurch erklären, daß in den untersuchten Thymushyperplasien cortikale Epithelzellen im Vergleich zum normalen Thymus vermehrt sind. Dieses wurde auch durch die Markierungen mit Tü 11 und Tü 25 angedeutet. Allerdings müßten durch die mAk gegen HLA-Klasse II Antigene wesentlich mehr Epithelzellen erfaßt werden, da diese mit ihren positiven Membranfortsätzen stellenweise eine Färbung aller T-Zellen bewirkten. Dazwischen lagen regellos verteilt Bezirke, in denen Epithelzellen ähnlich dicht wie im normalen Thymus auftraten und benachbarte T-Zellen nur stellenweise Kontakt zu positiven Membranfortsätzen hatten.
Die Frage, ob in der follikulären Thymushyperplasie Myastheniekranker neben den vermehrten Epithelzellen auch cortikale Thymozyten wie aktivierte T-Zellen (EVANS et al., 1978; FU et al., 1978) HLA-Klasse II Antigene exprimieren, müßte elektronenmikroskopisch geklärt werden.

Im Vergleich zum benignen Thymom des Nichtmyasthenikers wiesen auch beide untersuchten Myastheniethymome vermehrt Epithelzellen auf, die HLA-Klasse II Antigene exprimierten. Wie die mit Tü 11 und Tü 25 vermehrt gefundenen epithelialen Zellen unterschieden sich die mit den mAk Tü 22, 34, 35, 36, 37, 39 und Tü 43 gefundenen Epithelzellen des cortexähnlichen Gewebes der Myastheniethymome von solchen des normalen Cortex aufgrund kürzerer Fortsätze. Dadurch wurden benachbarte T-Zellen weniger häufig von positiven Membranfortsätzen berührt und erschienen als sicher negativ

markiert.

Bei Mäusen konnte für bestimmte Ia Antigenphänotypen eine vermehrte Empfänglichkeit gegenüber einer experimentell induzierbaren Autoimmunmyasthenia gravis festgestellt werden (CHRISTADOSS et al., 1981). Ia Moleküle stellen das Äquivalent zu HLA-Klasse II Antigenen des Menschen dar. Es ist deshalb anzunehmen, daß auch beim Menschen diese Antigene für den Pathomechanismus der MG von Bedeutung sind. Die Aktivierung von T-Zellen durch Antigene sowie die Ausübung von Effektorfunktionen erfordert die Erkennung von Selbst-Histokompatibilitätsmerkmalen zusammen mit Fremdantigenen. In diesem Zusammenhang ist gezeigt worden, daß mAk gegen HLA-Klasse II Moleküle die Stimulation und Proliferation von menschlichen T-Zellen blockieren können (ECKELS et al., 1982; PAWELEC et al., 1982), d.h. daß menschliche T-Zellen ein Fremdantigen nur in Verbindung mit diesen Molekülen erkennen.
T-Zellen erlernen diese HLA-Restriktion offenbar während ihrer Reifung innerhalb des Thymus (BEVAN, 1978; ZINKERNAGEL et al., 1978). Dieser Prozeß beruht nach heutiger Vorstellung darauf, daß im Thymus diejenigen T-Zellen selektioniert werden, die auf thymuseigene HLA-Moleküle in Assoziation zu Fremdantigenen reagieren.
Dabei wird angenommen, daß für diese T-Zellprogrammierung der direkte Kontakt der T-Zellen zu epithelialen Zellen und interdigitären Retikulumzellen eine wichtige Rolle spielt (BHAN et al., 1980; JANOSSY et al., 1980). Die in dieser Untersuchung gefundene Vermehrung von HLA-Klasse II positiven Epithelzellen im Myastheniethymus könnte sich auf die T-Zellreifung auswirken und zu quantitativen oder qualitativen Störungen der T-Zellrezeptoren führen.
Die erhöhte Suszeptibilität für MG bei Patienten eines HLA-DR3 positiven Phänotyps könnte ferner darauf hinweisen (SAFWENBERG et al., 1978), daß HLA-Klasse II Moleküle an der Auslösung der MG beteiligt sind. Wie aufgrund von Tiermodellen diskutiert wird (CHRISTADOSS et al., 1981), könn-

ten bestimmte HLA-Klasse II Moleküle in Verbindung mit Acetylcholinrezeptoren von immunkompetenten Zellen als Fremdantigen erkannt werden, weil sie in die entsprechenden Rezeptoren auf deren Oberfläche passen.
Ob Patienten mit MG dabei auch strukturelle Besonderheiten der HLA-Klasse II Moleküle im Vergleich zu Normalpersonen aufweisen, kann jedoch mit den mAk der vorliegenden Arbeit nicht gezeigt werden. Dieses müßte nach Definition weiterer mAk gegen Allodeterminanten genauer analysiert werden.

4.5. Schlußfolgerung

Die untersuchten follikulären Thymushyperplasien zeigten bei annähernd normaler T-Zellzusammensetzung eine Vermehrung medullärer B-Zellen. Demgegenüber standen die beiden Myastheniethymome, die kaum B-Zellen aber eine Vermehrung unreifer T-Zellen aufzuwiesen schienen.
Diese Beobachtungen lassen vermuten, daß verschiedene Pathomechanismen eine Autoimmunreaktion gegen Acetylcholinrezeptoren bei MG bewirken.
Da allen untersuchten Myastheniethymusdrüsen, d.h. follikuläre Thymushyperplasie und malignes Thymom, die Vermehrung von cortikalen Epithelzellsubpopulationen im Vergleich zum normalen Thymus gemeinsam war, stellt sich die Frage, ob sie die Ursache der obigen immunologischen Fehlreaktionen darstellt. Es bliebe zu untersuchen, wie diese Epithelzellen den Pathomechanismus der MG unterhalten, indem sie bestimmte B- oder T-Zellen zur Proliferation anregen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Zusammenfassend lassen sich folgende Ergebnisse festhalten:

Die Medulla der untersuchten follikulären Thymushyperplasien zeigte im Vergleich zum normalen Thymus und zu den untersuchten Thymomen eine Vermehrung von B-Zellen. Die Markierung mit dem anti IgM-Serum und dem mAk Tü 11 wies diese Zellen nicht nur in den immunhistologisch regelrechten Keimzentren der Medulla nach, sondern auch in Zellhaufen, die nicht Primärfollikeln angehörten. Tü 1 und IgD positive Zellen blieben dagegen auf medulläre Keimzentren beschränkt.

Die Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen gestaltete sich in der follikulären Thymushyperplasie ähnlich wie im normalen Thymus. Reife medulläre T-Zellen und deren Subpopulationen waren jedoch nicht wie im normalen Thymus gleichmäßig verteilt, sondern konzentrierten sich in T-Zell reichen Arealen, besonders um Lymphfollikel. Das benigne Thymom und die beiden Myastheniethymome bestanden zum größten Teil aus unreifen (OKT 6 positiv) T-Zellen. Reife (OKT 6 negativ) T-Zellen erschienen in diesen Thymomen vermindert.

Im Cortex der follikulären Thymushyperplasie sowie im cortexähnlichen Gewebe der beiden Myastheniethymome ließen sich mit den mAk Tü 11 und Tü 25, sowie mit den mAk gegen HLA-Klasse II Antigene Epithelzellsubpopulationen gegenüber dem normalen Thymus vermehrt beobachten.
In der Medulla bildeten Tü 1, und Tü 25 positive Epithelzellen 'breite Straßen' um Hassall'sche Körperchen, Lymphozyten reiche Areale, sowie um Lymphfollikel und deren umgebende T-Zellzone.

Die Verteilung der HLA-Klasse I und II Antigene gestaltete sich in allen untersuchten pathologischen Thymusdrüsen ähn-

lich wie im normalen Thymus: HLA-Klasse I Merkmale wurden von allen medullären Zellen und cortikalen Epithelzellen in stärkerem Maße exprimiert als von unreifen (OKT 6 positiv) T-Zellen.
HLA-Klasse II Antigene fanden sich deutlich auf cortikalen und medullären Epithelzellen. Medulläre und cortikale T-Zellen schienen diese Antigene nicht sicher aufzuweisen.

Die Frage, ob die in allen Myastheniethymusdrüsen vermehrt gefundenen Epithelzellsubpopulationen den Pathomechanismus der MG unterhalten, muß in weiteren Untersuchungen beantwortet werden.

6. ABBILDUNGEN UND TABELLEN

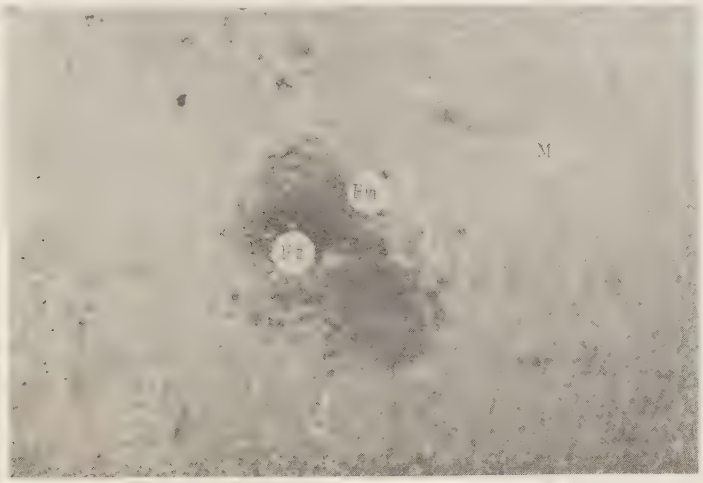

Abb. 1: Follikuläre Thymushyperplasie, Nr. 12, Markierung des mAk Tü 1, Vergrößerung 100-fach.
M: Medulla, Fm: Follikelmantel, Fz: Follikelzentrum

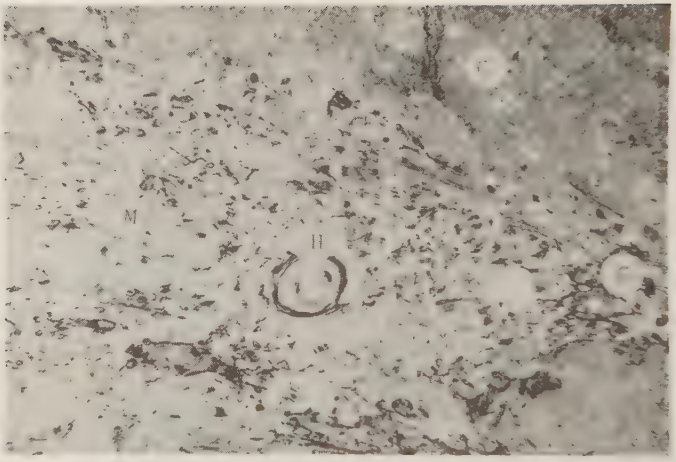

Abb. 2: Normaler kindlicher Thymus, Nr. 4, Markierung des mAk Tü 25, Vergrößerung 100-fach. C: Cortex, M: Medulla, H: Hassall'sche Körperchen, G: Gefäße

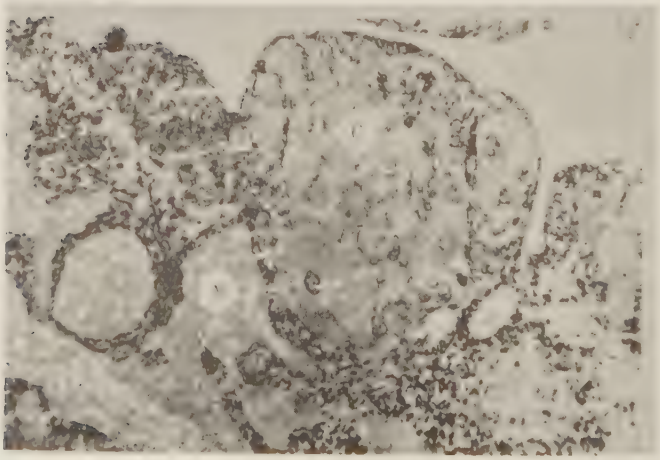

Abb. 3: Follikuläre Thymushyperplasie, Nr. 16, Markierung des mAk Tü 25, Vergrößerung 100-fach.
C: Cortex, M: Medulla

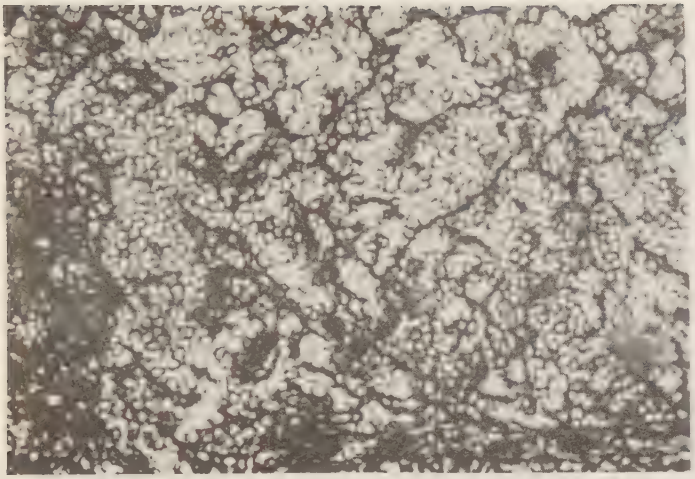

Abb. 4: Normaler kindlicher Thymus, Nr. 7, Markierung des mAk W6/32.HL, cortikales Reaktionsmuster, Vergrößerung 250-fach.

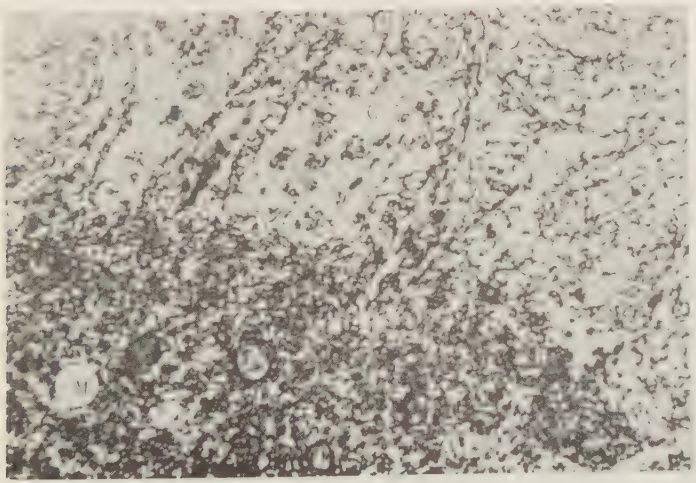

Abb. 5: Normaler kindlicher Thymus, Nr. 7, Markierung des mAk Tü 39, Vergrößerung 100-fach.
C: Cortex, M: Medulla

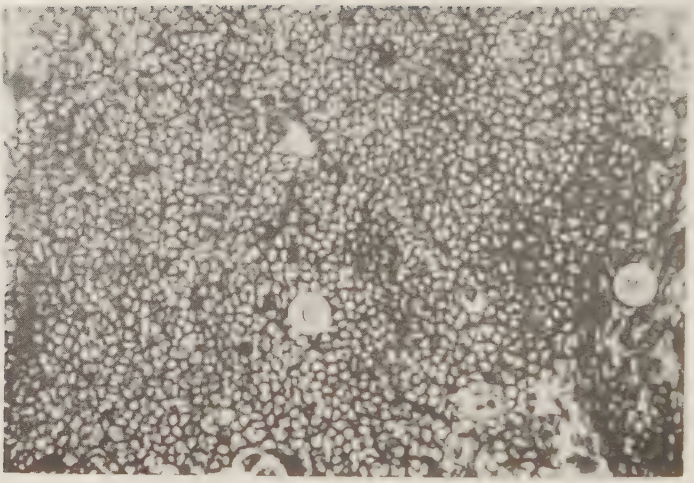

Abb. 6a: Cortikales Reaktionsmuster der follikulären Thymushyperplasie, Nr. 13, Tü 39-Markierung, Vergrößerung 250-fach. C: Cortex, M: Medulla

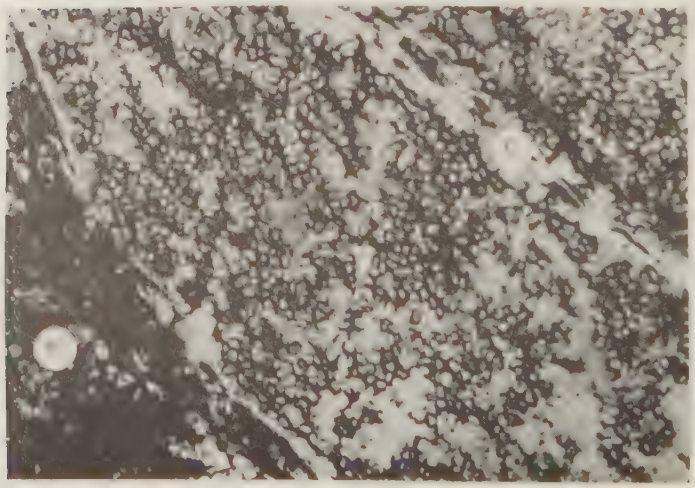

Abb. 6b: Cortikales Reaktionsmuster der follikulären Thymushyperplasie, Nr. 13, Tü 39-Markierung, Vergrößerung 250-fach. C: Cortex, M: Medulla

Tabelle I: Angaben über Spender der untersuchten Thymusdrüsen

a: Normaler Thymus

Präp.Nr.	Geschlecht	Alter+	HLA-Phänotyp, Klasse I Antigene
1	männlich	1J.	nicht bestimmt
2	männlich	1J.	nicht bestimmt
3	weiblich	4J.	A1, B7, B8, Bw6, Cw7,
4	weiblich	1J.	A25, A26, B27, Bw62, Bw6, Bw4,
5	männlich	2J.	A1, A3, B7, Bw44, Bw6, Bw4, Cw4
6	männlich	2J.	A1, A3, B7, B8, Bw6, Cw7, Cw5,
7	weiblich	1J.	A3, B7, Bw44, Bw6, Bw4
8	weiblich	1J.	nicht bestimmt
9	männlich	3J.	nicht bestimmt

+, bei Operation

Tabelle I b: Follikuläre Thymushyperplasie bei MG

Präp.Nr.	Geschlecht	Alter[+]	Dauer der Erkrankung[+]	MG-Schweregrad[=]	HLA-Phänotyp, Klasse I Antigene
10	weiblich	23J.	2J.	IIa	A28, A1, B8, B35, Bw6, Cw4,
11	weiblich	26J.	9J.	IIb	A2, B13, Bw38, Bw4,
12	weiblich	39J.	1J.	III	A2, A1, B8, Bw60, Bw6, Cw3,
13	weiblich	23J.	3J.	IIb	A31, A1, Bw60, Bw62, Bw6, Cw3,
14	männlich	38J.	5J.	IIb	A24, A31, B37, Bw62, Bw6, Bw4, Cw1,
15	männlich	35J.	4J.	IIb	nicht bestimmt
16	weiblich	20J.	5J.	IIb	nicht bestimmt
17	weiblich	28J.	1J.	III	nicht bestimmt

+, bei Operation; =, nach PERLO et al., 1966

Tabelle I c: Thymom

Präp.Nr.	Geschlecht	Alter[+]	Dauer der Erkrankung[+]	MG-Schweregrad[=]	HLA-Phänotyp, Klasse I Antigene
18	männlich	41J.	0J.	III	A2, B7, Bw60, Bw6, Cw7, Cw3,
19	männlich	28J.	0J.	III	nicht bestimmt
20	männlich	39J	?	ø	nicht bestimmt

+, bei Operation,
=, nach PERLO et al., 1966

Tabelle II: Monoklonale Antikörper (mAk)

Antikörper-bezeichnung	Spezifität	angewandte Verdünnung§
OKT 3	mehr als 95% der T-Zellen im Blut	1 : 4
OKT 4	Helfer T-Zellen	1 : 4
OKT 6	Thymozyten	1 : 4
OKT 8	zytotox./Suppress. T-Zellen	1 : 4
T 28	E-Rosetten bildende T-Zellen	unverdünnter Kulturüberstand
Tü 1	B-Zellsubpopulation	"
Tü 11	B-Zellsubpopulation Plattenepithelzellen	"
Tü 25	Thymusepithelien	"
Tü 22	HLA-DC/DS/MB	"
Tü 34	HLA-DR	"
Tü 35	HLA-DR und einige SB-Moleküle	"
Tü 36	HLA-DR	"
Tü 37	HLA-DR und einige SB-Moleküle	"
Tü 39	HLA-DR und alle SB-Moleküle	"
Tü 43	HLA-DR und einige SB-Moleküle	"
W6/32.HL	schwere Ketten aller HLA-ABC Antigene	"
W6/32.HK	Negativkontrolle	"

Tabelle II: Monoklonale Antikörper (mAk)

Antikörper-bezeichnung	Spezifität	angewandte Verdünnung§
Sc 6290	HLA-A2, A28,	1 : 1
MA 2.1	HLA-A2, B17,	1 : 1000
ME 1	HLA-B27, B7, B22,	1 : 500
MB 40.2	HLA-B7, B40	1 : 1
Tü 48	HLA-Bw4, A32, A23, A24,	unverdünnter Kulturüberstand

§: Verdünnung mit einer 1 %igen Rinderserumalbuminlösung in 0.1M NaCl/0.001M Trispuffer (pH 7.4). Dabei wurde die Antikörperverdünnung gewählt, bei der die meisten Zellen spezifisch gefärbt wurden

Tabelle III. Reaktionsmuster der Antiimmunglobulinseren

A: Normaler Thymus

Antiserum	Medulla	Cortex
anti IgM	+	ø
anti IgD	+	ø

B: Follikuläre Thymushyperplasie (außer Keimzentren)

Antiserum	Medulla	Cortex
anti IgM	++	ø
anti IgD	+	ø

c: Thymom (maligne und benigne)

Antiserum	A	B
anti IgM	+	ø
anti IgD	+	ø

A: Bereiche mit gefäßähnlichen Strukturen
B: Übriges Gewebe
+ = vereinzelt positive Zellen - 1-5%
++ = einige positive Zellen - 10-30%

Tabelle IV: Reaktionsmuster der T-Zellantikörper

a: Normaler Thymus

mAk Bezeichnung	Medulla	Cortex
T 28	+++	++++
OKT 3	+++	++++
OKT 4	++	++++
OKT 6	+	++++
OKT 8	+/++	++++

b: Follikuläre Thymushyperplasie (T-Zell reiche Zonen)

mAk Bezeichnung	Medulla	Cortex
T 28	++++	++++
OKT 3	++++	++++
OKT 4	+++	++++
OKT 6	+/++	++++
OKT 8	++	++++

Tabelle IV c: Thymom (maligne und benigne)

mAk Bezeichnung	A	B
T 28	++++	++++
OKT 3	++++	++++
OKT 4	+++	++++
OKT 6	+/++	++++
OKT 8	++	++++

A: Bezirke mit gefäßähnlichen Strukturen
B: Übriges Gewebe

\+ = vereinzelt positive Zellen - 1-5%
** = einige positive Zellen - 10-30%
+++ = ca. die Hälfte der Zellen ist positiv - 40-60%
++++ = fast alle Zellen positiv - 70-90%

Tabelle V: cortikale Reaktionsmuster am normalen Thymus der Antikörper Tü 11 und Tü 25.

Thymusnr.	Tü 11	Tü 25
1	ø	ø
2	D	D
3	n.d.	n.d.
4	ø	ø
5	ø	ø
6	D	D
7	ø	ø
8	n.d.	n.d.
9	ø	ø

Legende: ø = keine Zellen markiert, nur Membranbruchstücke
D = weites dentritisches Reaktionsmuster
n.d. = Markierung wurde nicht durchgeführt

Tabelle VI: Reaktionsmuster der polymorphen mAk gegen HLA-Klasse I Antigene

a: Normaler Thymus

Präp. Nr.	HLA-Phänotyp	monoklonale Antikörper									
		Sc 6920 A2, A28;		MA 2.1 A2, B17;		ME 1 B27,7,22;		MB 40.2 B7, B40;		Tü 48 Bw4,A32,23,24;	
		C	M	C	M	C	M	C	M	C	M
1§	B 40	ø	ø	ø	ø	ø	ø	DD	++++	ø	ø
2§	A2	DD	++++	D	++++	ø	ø	ø	ø	ø	ø
3	B7	ø	ø	ø	ø	D	++++	DD	++++	ø	ø
4	B27	ø	ø	ø	ø	D	++++	ø	ø	n. d.	
5	B7, Bw4	ø	ø	ø	ø	D	++++	DD	++++	ø	+++
6	B7	ø	ø	ø	ø	D	++++	n. d.		ø	ø
7	B7, Bw4	ø	ø	ø	ø	D	++++	DD	++++	ø	+++
8§	A2	DD	++++	D	++++	ø	ø	ø	ø	ø	ø
9§	A2	DD	++++	D	++++	ø	ø	ø	ø	ø	ø

§: wurden mit Hilfe dieser mAk typisiert.

Tabelle VI b: Follikuläre Thymushyperplasie bei MG

Präp. Nr.	HLA-Phänotyp	monoklonale Antikörper Sc 6290 A2, A28;		MA 2.1. A2, B17;		Tü 48 Bw4, A32,23,24;	
		C	M	C	M	C	M
11	A2, Bw4	DD	++++	D	++++	ø	+++
12	A2	DD	++++	D	++++	ø	ø
14	Bw4	ø	ø	ø	ø	ø	+++

Tabelle VI c: malignes Thymom

Präp. Nr.	HLA-Phänotyp	monoklonale Antikörper Sc 6290 A2, A28;		ME 1 B27,7,22;		MB 40.2 B7, B40;	
		A	B	A	B	A	B
18	A2, B7	++	++++	++	++++	++	++++

Legende für Tabelle VI:

C: Cortex; M: Medulla; A: Übriges Gewebe; B: Bezirke mit gefäßähnlichen Strukturen;

D = weites dentritisches Reaktionsmuster

DD = dichtes dentritisches Reaktionsmuster

++ = einige Zellen sind positiv (10-30%)

+++ = ca. die Hälfte der Zellen sind positiv (40-60%)

++++ = fast alle Zellen sind positiv (70-90%)

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

MG	Myasthenia gravis
MHC	Major Histokompatibility Complex
HLA	Human Leucocyte Antigen
PAP	Peroxidase-Anti-Peroxidase
mAk	monoklonale(r) Antikörper
E	Schafserythrozyten
C	Complement

8. LITERATURVERZEICHNIS

AARLI, J.A.; HEIMAN, P.; MATRE, R.; THUNOLD, S.; TÖNDER, O.: Lymphocyte subpopulations in thymus and blood from patients with myasthenia gravis. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 42 (1), 29-34 (1979)

ABDOU, N.J.; LISAK, R.P., ZWEIMAN, B.; ABRAHAMSOHN, J.; PENN, A.S.: The thymus in myasthenia gravis: evidence for altered cell populations. N Engl. J. Med. 291, 1271-1275 (1974)

ABRAMSKY, O.; AHARNOV, A; WEBB, C.; FUCHS, S.: Cellular immune response to acetylcholine receptor - rich fraction in patients with myasthenia gravis. Clin. Exp. Immunol. 19, 11-16 (1975)

AHARNOV, A.; ABRAMSKY, O.; TARRAB-HAZDAI, R.; FUCHS, S.: Humoral antibodies to acetylcholine receptor in patients with myasthenia gravis. Lancet 2, 340-342 (1975)

BACH, J.F.; DARDENNE, J.; PAPIERNIK, M.; LEVASSEUR, P.; BAROIS, A.; BRIGAND, H.le: Evidence for a serum factor secreted by the human thymus. Lancet 2, 1056-1058 (1972)

BARNSTABLE, C.J.; BODMER, W.F.; BROWN, G.; GALFRÈ G.; MILSTEIN, C.; WILLIAMS, A.F.; ZIEGLER, A.: Production of monoclonal antibodies to group A erythrocytes, HLA and other human cell surface antigens. - New tools for genetic analysis. Cell 14, 9-20 (1978)

BEARMAN, R.M.; LEVINE, G.D.; BENSCH, K.G.: The ultrastructure of the human thymus. A study of 36 cases. Anat. Rec. 190, 755-781 (1978)

BEVAN, M.J.; FINK, P.J.: The influence of thymus H-2 antigens on the specifity of maturing killer and helper cells.

Immunol. Rev. 42, 3-19 (1978)

BEVERLEY, P.C.; CALLARD, R.E.: Distinctive functional characteristics of human T-lymphocytes defined by E-rosetting or a monoclonal anti-T cell antibody. Eur. J. Immunol. 11, 329-334 (1981)

BHAN, K.A.; NADLER, L.M.; STASHENKO, P.K.; McCLUSKEY, R.T.; SCHLOSSMAN, S.F.: Stages of B cell differentiation in human lymphoid tissue. J. Exp. Med. 154, 737-749 (1981)

BHAN, K.A.; REINHERZ, E.L.; POPPEMA, S.; McCLUSKEY, R.T.; SCHLOSSMAN, S.F.: Location of T cell and major histocompatibility complex antigens in the human thymus. J. Exp. Med. 152, 771-782 (1980)

BLALOCK, A.; MASON, M.F.; MORGAN, H.J.: Myasthenia gravis and tumors of the thymic region: report of a case in which the tumor was removed. Ann. Surg. 110, 544-561 (1939)

BUCKINGHAM, J.M.; HOWARD, F.M.; BERATZ, P.E.; SPENCER-PAYNE, W.; HARRISON, E.G.; BRIEN, O.C.; WEILAND, L.J.: The value of thymectomy in myasthenia gravis. Ann. Surg. 1984, 453-458 (1976)

CANTOR, H.; WEISSMAN, J.: Development and function of subpopulations of thymocytes and lymphocytes. Prog. Allergy 20, 1-64 (1976)

CASTLEMAN, B.: The pathology of the thymus gland in myasthenia gravis. Ann. NY. Acad. Sci. 135, 496-505 (1966)

CASTLEMAN, B.; NORRIS, E.H.: The pathology of the thymus in myasthenia gravis: a study of 35 cases. Medicine 28, 27-58 (1949)

CHANG, C.C.; LEE, C.Y.: Electrophysiological study of

neuromuscular blocking action of cobra neurotoxin. Br. J. Pharmacol. Chemother. 28, 172-181 (1966)

CHRISTADOSS, P.; LENNON, V.A.; KRCO, C.J.; LAMBERT, E.H.; DAVID, C.S.: Genetic control of autoimmunity to acetylcholine receptors: Role of Ia molecules. Ann. NY Acad. Sci. 377, 258-276 (1981)

COOK, J.D.; TROTTER, J.L.; ENGEL, W.K.; McINTOSH, B.: Altered immunological cell populations in thymuses from myasthenia gravis. Neurology (Minneap.) 27, 365 (1977)

DALAKAS, M.C.; ENGEL, W.K.; McCLURE, J.E.; GOLDSTEIN, A.L.: Immuncytochemical localisation of thymosin in thymic epithelial cells of normal and myasthenia gravis patients and in thymic cultures. J. Neurol. Sci. 50, 239-247 (1981)

DRACHMAN, D.B.; ADAMS, R.N.; JOSIFEK, L.F.; SELV, S.G.: Funktional activities of autoantibodies to acetylcholine receptors and the clinical severity of myasthenia gravis. N. Engl. J. Med. 307, 769-776 (1982)

DRACHMAN, D.B.; KAO, J.; PESTRONE, A.: Myasthenia gravis as a receptor disorder. Ann. NY. Acad. Sci. 274, 226-234 (1976)

ECKELS, D.D.; LAMB, J.R.; LAKE, P.; WOODY, J.N.; JOHNSON, A.H.; HARTZMAN, R.J.: Antigen-specific human T lymphocyte clones. Genetic restriction of influenza virus-specific responses to HLA-D region genes. Human Immunol. 4, 313-324 (1982)

ELLIS, A.S.; TAYLOR, C.; McMICHAEL, A.: Recognition of HLA-B27 and related antigen by a monoclonal antibody, Hum. Immunol. 5, 49-59 (1982)

ELMQUIST, D.; Hofman, W.W.; KUGELBERG, J.; QUASTEL, D.M.J.: An electrophysiological investigation of neuromuscular transmission in myasthenia gravis. J.Physiol. (Lond.) 174, 417-434 (1964)

EVANS, E.L.; FALDETTA, T.J.; HUMPHREYS, R.E.; PRATT, D.M.; YUNIS, E.J.; SCHLOSSMAN, S.F.: Peripheral human T cells sensitized in mixed leukocyte culture synthesize and express Ia- like antigens. J. Exp. Med. 148, 1440-1445 (1978)

FAMBROUGH, D.M.; DRACHMAN, D.B.; SATYAMURTI, S.: Neuromuscular junction in myasthenia gravis: decreased acetylcholine receptors. Science 1982, 293-295 (1973)

FERRONE, S.: unveröffentlichte Ergebnisse

FU, S.M.; CHIORAZZI, N.; WANG, C.Y.; MONTAZERI, G.; KUNKEL, H.G.; KO, H.S.; GOTTLIEB, A.B.: Ia-bearing lymphocytes in man. Their identification and role in the generation of allogeneic helper activity. J. Exp. Med. 148, 1423-1428 (1978)

GAUDECKER, B.V.v.; MUELLER-HERMELINK, H.K.: Ontogenic differentiation of epithelial and non-epithelial cells in the human thymus. Adv. Exp. Biol. 114, 19-23 (1979)

GENKINS; G.; PAPATESTA, Q.E.; HOROWITH, S.H.; KORNFELD, P.: Studies in myasthenia gravis: early thymectomy - electrophysiologic and pathologic correlations. Amer. J. Med. 58, 517-519 (1975)

GOLDSTEIN, G.: Plasma cells in the human thymus. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 44, 695-700 (1975)

GOLDSTEIN, G.: Thè isolation of thymopoietin (thymin). Ann. NY. Acad. Sci. 249, 177-185 (1975)

GOLDSTEIN, G.; ABBOT, A.; MACKAY, J.R.: An electron microscopic study of the human thymus: normal appearances and findings in myasthenia gravis and systemic lupus erythematosus. J. Path. Bact. 95, 211-215 (1968)

GOLDSTEIN, G.; MANGANARO, A.: Thymin: a thymic polypeptid causing the neuromuscular block of myasthenia gravis. Ann. NY. Acad. Sci. 183, 230-240 (1971)

HEINRICHS, H.; WERNET, P.; ZIEGLER, A.: Expression of Major Histocompatibility antigens on the human thymocytes studied by monoclonal antibodies. Immunogenetics 11, 629-635 (1980)

HWANG, W.S.; HO, T.Y.; LUK, S.C.; SIMON, C.T.: Ultrastructure of the rat thymus. A transmission, scanning electron microscope and morphometric study. Lab. Invest. 31, 473-487 (1974)

JANOSSY, G.; THOMAS, J.A.; BOLLUM, F.J.; GRANGER, S.; PIZZOLD, G.; BRADSTOCK, K.F.; WONG, L.; McMICHAEL, A.; GANESHAGRU, K.; HOFFBRAND, A.V.: The human thymic microenvironment: an immunhistologic study. J. Immunol. 125, 202-212 (1980)

JENKINS, R.B.: Treatment of myasthenia gravis with prednisone. Lancet 1, 765-767 (1972)

JOHNSON, J.P.; MEO, T.; RIETHMUELLER, G.; SCHENCK, D.J.; WANK, R.: Direct demonstration of an HLA-DR allotypic determinant on the low molecular weight (ß) subunit using a mouse monoclonal antibody specific for DR 3. J. Exp. Med. 156 (1), 104-111 (1982)

KAO, J.; DRACHMAN, D.B.: Myasthenic immunglobulin accelerates acetylcholine receptor degradation. Neurology (Minneap.) 27, 364-365 (1977a)

KAO, J.; DRACHMAN, D.B.: Thymic muscle cells bear acetylcholine receptors: possible relation to myasthenia gravis. Science 195, 74-75 (1977b)

KÖHLER, G.; MILSTEIN, C.: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256, 495-497 (1975)

KÖHLER, G.; MILSTEIN, C.: Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion. Eur. J. Immunol. 6, 511-519 (1976)

KUNG, P.C.; GOLDSTEIN, G.; REINHERZ, E.L.; SCHLOSSMAN, S.F.: Monoclonal antibodies defining distinctive human T-cell surface antigens. Science 206, 347-349 (1979)

LEVINE, G.D.; ROSAI, J.: Thymic hyperplasia: a review of current concepts. Prog. Hum. Pathol. 9, 495-515 (1978)

LINDSTRÖM, J.M.; SEYBOLD, M.E.; LENNON, A.; WITTINGHAM, S.; DUANE, D.D.: Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis. Prevalence, clinical correlation and diagnostic value. Neurology (Minneap.) 26, 1054-1059 (1976)

LISAK, R.P.; ZWEIMAN, B.; PHILLIPS, S.M.: Thymic and peripheral blood T-cell and B-cell levels in myasthenia gravis. Neurology (Minneap.) 28, 1298-1301 (1978)

MASON, D.Y.; STEIN, H.; NAIEM, M.; ABDULAZIZ, Z.: Immunological analysis of human lymphoid tissue by double immunoenzymatic labelling. J. Cencer Res. Clin. Oncol. 101, 13-27 (1981)

McMICHAEL, A.J.; PARHAM, P.; RUST, N.; BRODSKY, F.: A monoclonal antibody that recognizes an antigenic determinant shared by HLA A2 and B17. Hum. Immunol. 1 (2), 121-129 (1980)

MILLER, J.F.: Effect of neonatal thymectomy on the immunological responsiveness of the mouse. Proc. Roy, Soc. (Biol.) 156, 415-428 (1962)

MUELLER, C.: persönliche Mitteilung (1984)

MUELLER; C.; STEIN; H.; ZIEGLER; A.; WERNET, P.: Quantitative differences in the distribution of HLA-class I antigenic determinants in the human thymic compartments. Eur. J. Immunol. 13, 414-418 (1983)

MUELLER, C.; ZIEGLER, A.; MUELLER, G.; SCHUNTER, F.; WERNET, P.: Monoclonal antibody (Tü 48) defining alloantigenic class I determinants specific for HLA-Bw4 and HLA-Aw23, -Aw24 as well as -Aw32. Hum. Immunol. 5, 269-281 (1982)

ÖZDEMIR, C.; YOUNG, R.R.: The results to be expected from electrical testing in the diagnosis of myasthenia gravis. Ann. NY. Acad. Sci 274, 203-222 (1976)

PARHAM, P.: Monoclonal antibodies against two seperate alloantigenic sites of HLA-B40. Immunogenetics 13, 509-527 (1981)

PAWELEC, G.P.; SHAW, S.; ZIEGLER, A.; MUELLER, C.; WERNET, P.: Differential inhibition of HLA-D- or SB- directed secondary lymphoproliferative responses with monoclonal antibodies detecting human Ia- like determinants. J. Immunol. 129, 1070-1075 (1982)

PERLO, V.P.; POSKANZER, D.C.; SCHWAB, R.S.; NIETS, H.R.; OSSERMAN, K.E.; GENKINS, G.: Myasthenia gravis. evalution in treatment in 1365 patients. Neurology (Minneap.) 16, 431-439 (1966)

POPPEMA, A.; BHAN, K.A.; REINHERZ, E.L.; McCLUSKEY, R.T.; SCHLOSSMAN, S.F.: Distribution of T-cell subsets in human lymphnodes. J. Exp. Med. 153, 30-41 (1981)

REINHERZ, E.L.; KUNG, P.C.; GOLDSTEIN, G.; LEVEY, R.H.; SCHLOSSMAN, S.F.: Discrete stages of human intrathymic differentation: analysis of normal thymocytes and leukemic blasts of T-lineage. Proc. Natl. Acad. Sci. 77, 1588-1592 (1980)

REINHERZ, E.L.; KUNG, P.C.; GOLDSTEIN, G.; SCHLOSSMAN, S.F.: Further characterization of human inducer T-cell subset defined by monoclonal antibody. J. Immunol. 123, 2894-2896 (1979)

RICHMAN, D.P.; PATRICK, J.; ARNASSOW, B.G.W.: Cellular immunity in myasthenia gravis response to purified acetylcholine receptor and autologous thymocytes. N. Engl. J. Med. 294, 694-698 (1976)

RUSSEL, D.S.: Histologic changes in the striped muscles in myasthenia gravis. J. Pathol. Bacteriol. 65, 279-289 (1953)

SAFWENBERG, J.; HAMMARSTROM, L.; LINDBLOM, J.B.; MATELL, G.; MUELLER, E.; OSTERMAN, P.O.; SMITH, S.I.E.: HLA-A, -B, -C, and -D antigens in male patients with myasthenia gravis. Tissue Antigens 12, 136-142 (1978)

SATYAMURTI, S.; DRACHMAN, D.B.; SLONE, F.: Blockade of acetylcholine receptors: a model of myasthenia gravis. Science 187, 955-957 (1975)

SEYBOLD, M.D.; DRACHMAN; D.B.: Gradually increasing doses of prednisone in myasthenia gravis reducing the hazards of treatment. N. Engl. J. Med. 290, 81-84 (1974)

SIMPSON, J.A.: Myasthenia gravis: a new hypothesis. Scott. Med. J. 5, 419-436 (1960)

SHAW, S.; ZIEGLER, A.; DeMARS, R.: zur Veröffentlichung angenommen (1985)

SHIER, K.J: The thymus according to Schambacher. Cancer 48, 1183-1199 (1981)

SLOAN, H.E.Jr.: The thymus in myasthenia gravis with observations on the normal anatomy and histology of the thymus. Surgery 13, 154-174 (1943)

STABER, F.G.; FINK, U.; SACK, W.B.: B-lymphocytes in the thymus of patients with myasthenia gravis. N. Engl. J. Med. 292, 1032-1033 (1975)

STEIN, H.; BONK, A.; TOLKSDORF, G.; LENNERT, K.; RODT, H.; GERDES, J.: Immunologic analysis of the organization of normal lymphoid tissue and non-Hodgkin's lymphoma. J. Histochem. Cytochem. 28, 746-760 (1980)

STERNBERGER, L.A.; HARDY, P.H.Jr.; CUCULIS, J.J.; MEYER, H.G.: The unlabeled antibody method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish- peroxidase- antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. J. Histochem. Cytochem. 18, 315-333 (1970)

TIDMAN, N.; JANOSSY, G.; BODGER, M.; GRANGER, S.; THOMAS, J.A.; KUNG, P.C.; GOLDSTEIN, G.: Delineation of human thymocyte differentiation pathways utilising double staining techniques with monoclonal antibodies. Clin. Exp. Immunol. 45, 457-467 (1981)

TOMAOKI, N.; HABU, S.; KAMEYA, T.: Thymic lymphoid folicles in autoimmune diseases. Histological, histochemical and electron microscopic studies. Keio. J. Med. 20, 57-68 (1971)

TRIVERS, G.E.; GOLDSTEIN, A.L.: The endocrine thymus - A role for thymosin and other thymic factors in cancer immunity and therapy. In: MARCHALONIS, J.J.; HANNA, M.G.; FIDLER, M.J. (Eds): Canadian Biological Review, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 49-131 (1980)

VELDE, R.L.v.d.; FRIEDMAN, N.B.: Thymic myoid cells and myasthenia gravis. Am. J. Pathol. 59, 347-368 (1970)

WARMOLTS, J.R.; ENGEL, W.K.: Benefit from alternate day prednisone in myasthenia gravis. N. Engl. J. Med. 286, 17-20 (1972)

WEISSMAN, J.L.; MASUDA, T.; OLIVE, C.; FRIEDBERG, S.H.: Differentation of migration of T-lymphocytes. Isr. J. Med. Sci. 11, 1267-1277 (1975)

ZIEGLER, A.: persönliche Mitteilung (1984)

ZIEGLER, A.; MILSTEIN, C.: A small polypeptide different from ß -mikroglobulin associated with a human cell surface antigen. Nature 279, 243-244 (1979)

ZIEGLER, A.; STEIN, H.; MUELLER, C.; WERNET, P.: A monoclonal antibody defining a B-cell subpopulation usefulness for classification of non-Hodgkin lymphomas. In: KNAPP, W. (ed.): Proceedings of Leukemia Marker Conference, Academic Press, London, 113-116 (1981)

ZINKERNAGEL, R.M.; CALLAHAM, G.N.; KLEIN, J.; DENNERT, G.: Cytotoxic T-cells learn specificity for self H-2 during differentiation in the thymus. Nature 271, 251-253 (1978).

L E B E N S L A U F

Name: Maria Regine Kaufmann
geboren am 14.03.1958 in Tübingen
Vater: Josef Kaufmann
Mutter: Hildegard Kaufmann, geb. Bumiller

Grundschule: von 1965 - 1968
Gymnasium: von 1968 - 1977 in 7240 Horb, Krs. Freudenstadt
Abitur: am Gymnasium Horb, 1977

Studium der Medizin:
SS 1978 - SS 1984 in Tübingen
Praktisches Jahr:
WS 1983/84 und SS 1984
am Universitätsklinikum Tübingen

Ärztliche Prüfung, Dritter Abschnitt, bestanden am 19.10.1984.

Druck Köhler Tübingen